

顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法分析普洱茶渥堆发酵过程中的香气成分变化

陈保^{1*}, 满红平¹, 姜东华¹, 罗正刚¹, 高晓丽², 李忠华²

(1. 国家普洱茶产品质量监督检验中心, 普洱 665000; 2. 云南茶祖茶业有限公司, 普洱 665000)

摘要: **目的** 探讨分析普洱茶渥堆发酵过程中香气成分的变化情况。**方法** 以普洱茶渥堆发酵过程中的样品为研究对象, 采取全自动顶空固相微萃取(headspace-solid-phase microextraction, HS-SPME)和气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析其香气成分, 研究普洱茶渥堆发酵过程中香气组分的变化。**结果** 随着翻堆次数的增加, 醇类化合物呈波动趋势, 酮类、酯类和碳氢化合物呈降低趋势, 酚类和甲氧基苯类化合物呈增加趋势, 醛类和酸类化合物变化不大; 渥堆结束(七翻)芳樟醇氧化物(I、II、III、IV)含量达到最高, 苯甲醇、 β -苯乙醇含量最低。渥堆后期(六翻)1,2,3-三甲氧基苯和1,2,4-三甲氧基苯含量最高, 而在七翻时它们的含量降低。**结论** 渥堆发酵过程中, 随着翻堆次数的增加, 香气成分变化显著, 本研究为普洱茶渥堆发酵工艺及品质稳定提供一定的技术支持。

关键词: 普洱茶; 渥堆发酵; 香气成分; 顶空固相微萃取; 气相色谱-质谱法

Changes of aroma components during Pu'er tea fermentation process by headspace-solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry

CHEN Bao^{1*}, MAN Hong-Ping¹, JIANG Dong-Hua¹, LUO Zheng-Gang¹, GAO Xiao-Li², LI Zhong-Hua²

(1. National Center for Pu'er Tea Product Quality Supervision and Inspection, Pu'er 665000, China;
2. Yunnan Cha Zu Tea Limited Company, Pu'er 665000, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the changes of aroma components during Pu'er tea fermentation process. **Methods** The changes of aroma components during pile-fermentation of Pu'er tea were studied by fully automated headspace-solid-phase microextraction (HS-SPME), and were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Results** With the changes of fermentation process, the content of alcohol compounds showed fluctuant trend, the content of ketone, ester and hydrocarbons were decreased, phenols and methoxybenzene were increased, and aldehydes and acids had little change. The content of linalool oxides(I, II, III, IV) was highest, benzyl alcohol and β -phenethyl alcohol were the lowest in the end of pile (seventh pile), the content of 1,2,3-trimethoxybenzene and 1,2,4-trimethoxybenzene were the highest at the later pile (sixth pile), then decreased at the seventh pile. **Conclusion** The variation of aroma components is significant in the pile-fermentation process, which provides some technological supports for improving fermentation process and stabilizing quality.

基金项目: 云南省质量技术监督局科技计划项目(2012yzjk03)

Fund: Supported by the Science and Technology Plan of Yunnan Provincial Bureau of Quality and Technical Supervision (2012yzjk03)

*通讯作者: 陈保, 硕士, 工程师, 主要研究方向为茶叶分析测试。E-mail: chenbao8493@163.com

*Corresponding author: CHEN Bao, Master, Engineer, National Center for Pu'er Tea Product Quality Supervision and Inspection, Yongping Road, Simao Zone, Pu'er 665000, China. E-mail: chenbao8493@163.com

KEY WORDS: Pu'er tea; pile-fermentation; aroma components; headspace-solid-phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry

1 引言

普洱茶以云南大叶种晒青茶为原料,根据不同的加工工艺分为普洱茶(生茶)、普洱茶(熟茶)^[1]。渥堆发酵是形成普洱茶(熟茶)品质的关键工序,普洱茶在高温高湿的环境中以及微生物的参与下发生了一系列剧烈的化学变化^[2],使普洱茶的滋味由原料的浓烈转化为醇厚,汤色由黄绿变为红褐,香气由清纯变为陈醇,具有降脂减肥等诸多保健功效^[3-5]。

茶叶香气是反映茶叶品质优劣的一个重要因素,“陈香”是普洱茶消费者追求的主要品质特征之一,也是目前市场上决定普洱茶价格的重要因子。目前,关于普洱茶香气成分的研究成为了茶叶品质化学领域的重要研究课题,研究人员对普洱茶原料、贮藏时间、加工方式对香气成分的影响进行了大量研究^[6-13],识别了普洱茶香气的关键成分^[14-16],初步建立了普洱茶香气指纹图谱^[17]。研究人员对普洱茶渥堆发酵过程香气成分的研究结果表明,晒青毛茶在渥堆过程中香气组分中的醇类成分和碳氢化合物成分剧烈减少,而杂氧化合物成分和酯类成分大幅度增加^[18,19];且不同发酵程度的普洱茶香气品质存在很大差异,良好的加工工艺是普洱茶特殊香气品质形成的关键^[20]。本研究在对普洱茶渥堆发酵过程的研究基础上^[21,22],采用全自动顶空固相微萃取(headspace-solid-phase microextraction, HS-SPME)结合气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析其香气成分,探讨普洱茶渥堆发酵过程中的香气成分的变化规律,为普洱茶的渥堆发酵工艺及品质稳定提供理论依据。

2 材料和方法

2.1 材料与设备

2.1.1 试验材料

渥堆发酵过程:以2014年普洱市镇沅县九甲晒青毛茶(三级)为原料,用量为8.78 t,喷施一定的水,使茶还含水量在(30±1)%,在发酵过程中,每天观察堆温和环境温度湿度并作记录,共翻堆7次。

试验样品:普洱茶渥堆发酵过程中,每隔7 d进行1次翻堆,翻堆前取上层(厚10 cm,离地50 cm)、中层(厚10 cm,离地30 cm)、下层(厚10 cm,离地5 cm)各500 g,混合样(上层、中层和下层样品按1:1:1的质量比例混合均匀),测定混合样的香气成分。

2.1.2 设备

7890A/7000B 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公

司);自动固相微萃取装置(美国 CTC 公司);萃取纤维头为65 μm PDMS/DVB(Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene)(美国 Supelco 公司)。

2.2 试验方法

2.2.1 香气提取条件

使用前,先将PDMS/DVB萃取头在GC进样口250 °C老化1 h,称取粉碎的茶叶样品2 g至20 mL顶空瓶中,立即密封瓶口,放入自动固相微萃取装置系统,待测。

2.2.2 GC-MS 条件

GC条件:HP-MS色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);进样口温度220 °C;载气为高纯氦气,纯度为99.99%,柱流量1.2 mL/min;升温程序:初始温度50 °C,保持1 min,以3 °C/min升温至120 °C,保持3 min,以5 °C/min升温至260 °C,保持10 min;不分流进样。

MS条件:离子源EI,电子能量70 eV,离子源温度230 °C,接口温度280 °C,质量扫描范围45~450 *m/z*。

2.3 数据处理

由GC-MS分析得到的质谱数据经解卷积软件找出化合物,再在NIST11.L标准谱库进行检索,然后再从特征离子、相对丰度、实际成分等方面进行综合比较,确定其化学成分,同时采用峰面积归一化法进行定量,得到各组分的相对含量(组分面积占总峰面积的百分比)。

3 结果与分析

3.1 普洱茶渥堆过程中香气成分分析

按照上述分析条件,对普洱茶渥堆发酵过程中的8个样品进行香气成分分析,得到香气成分分析结果见表1。普洱茶渥堆发酵过程共鉴定出香气成分71种,其中醇类23种(萜烯醇10种、脂肪族醇5种、芳香醇6种),碳氢化合物16种(烯类6种、芳香族7种),醛类2种,酮类6种,酚类4种,酯类11种,酸类4种,杂氧化合物3种,含氮化合物2种。

晒青茶原料鉴定出香气成分65种,特有香气成分7种,香气总量为88.26%,含量较高的前10种香气成分为:咖啡因(13.13%)、二氢猕猴桃内酯(6.16%)、β-紫罗酮(4.77%)、芳樟醇(4.09%)、芳樟醇氧化物II(4.05%)、α-松油醇(3.39%)、芳樟醇氧化物IV(3.02%)、α-柏木烯(2.67%)、正十三烷(2.41%)、芳樟醇氧化物I(2.34%);二氢猕猴桃内酯具有香豆素及麝香样气息,β-紫罗酮具有紫罗兰的香气,α-松油醇具有树木的香气及稳定的紫丁香香气,芳樟醇及其氧化物呈强的木香、花香、萜香及清香气,萜类化合物

作为主要的香气成分,占有很大的比重,以芳樟醇、芳樟醇氧化物、 α -松油醇等为代表的花香物质,决定了晒青毛茶的香气品质。

普洱茶渥堆发酵过程中主要香气物质的含量,以三翻为例,茶样中共鉴定出香气成分57种,香气总量为87.93%,含量较高的前10位香气成分为:咖啡因(26.44%)、 β -苯乙醇(5.68%)、二氢猕猴桃内酯(4.37%)、 α -松油醇(2.97%)、芳樟醇氧化物II(2.82%)、芳樟醇氧化物IV(2.80%)、 β -紫罗酮(2.33%)、月桂酸戊酯(2.32%)、芳樟醇氧化物I(2.08%)、1,2,4-三甲氧基苯(2.02%); β -苯乙醇具有甜花香,新鲜面包香及玫瑰香韵,1,2,4-三甲氧基苯具有

陈香味,在晒青茶香的基础上,陈香初显。

渥堆结束时,从七翻茶样中鉴定出香气成分53种,香气总量为84.44%,含量较高的前10位香气成分为:咖啡因(24.99%)、芳樟醇氧化物II(6.82%)、芳樟醇氧化物IV(5.10%)、 α -松油醇(4.24%)、芳樟醇氧化物I(4.17%)、 α -柏木烯(3.56%)、1,2,4-三甲氧基苯(2.84%)、芳樟醇氧化物III(2.45%)、二氢猕猴桃内酯(2.33%)、1,2,3-三甲氧基苯(2.12%); α -柏木烯具有柏木、檀香气,1,2,4-三甲氧基苯和1,2,3-三甲氧基苯是普洱茶陈香味的重要贡献者,芳樟醇及其氧化物伴有木香,普洱茶的陈香有较好的协调作用。

表1 普洱茶渥堆发酵过程中香气成分分析结果
Table 1 Results of aroma components during Pu'er tea fermentation process

类型	序号	名称	相对含量(%)							
			原料	一翻	二翻	三翻	四翻	五翻	六翻	七翻
	1	芳樟醇氧化物I	2.34	2.56	1.57	2.08	3.61	3.02	3.59	4.17
	2	芳樟醇氧化物II	4.05	4.08	1.81	2.82	5.88	4.60	5.12	6.82
	3	芳樟醇	4.09	2.85	1.32	1.82	3.21	1.31	1.15	0.87
	4	芳樟醇氧化物III	0.86	0.99	0.82	0.87	1.45	1.49	1.24	2.45
	5	芳樟醇氧化物IV	3.02	2.81	2.62	2.80	4.33	4.67	4.57	5.10
	6	α -松油醇	3.39	3.52	3.35	2.97	4.49	4.75	3.70	4.24
	7	香叶醇	0.92	0.48	0.55	0.19	0.36	0.35	0.28	0.17
	8	异长叶醇	0.45	0.29	0.29	0.19	0.20	0.18	0.11	—
	9	α -菖蒲烯醇	0.77	0.62	0.33	0.64	0.46	0.41	0.20	0.19
	10	6-白菖醇	0.96	0.79	1.00	0.88	0.79	0.89	0.72	0.84
	11	二甲基辛二烯二醇	1.75	—	—	—	—	—	—	—
醇类	12	3,7,11-三甲基月桂醇	1.06	0.68	0.69	0.73	0.54	0.56	0.52	0.68
	13	三十七烷醇	0.59	0.63	0.25	0.19	0.19	0.25	0.30	0.21
	14	法呢醇	0.69	—	—	—	—	—	—	—
	15	2-甲基十七烷醇	0.46	—	—	—	—	—	—	—
	16	间氨基苯甲醇	0.42	—	—	—	—	—	—	—
	17	苯甲醇	0.38	1.59	2.61	1.79	1.14	1.00	0.80	—
	18	β -苯乙醇	1.19	3.99	6.08	5.68	9.28	5.65	7.21	0.42
	19	2,3-二甲氧基苯甲醇	0.75	—	—	—	—	—	—	—
	20	2-氟-3-甲氧基苯醇	0.41	0.44	0.35	0.42	0.21	0.44	0.32	0.31
	21	3,4,5-三甲氧基苯甲醇	—	—	—	—	0.28	0.38	0.41	0.17
	22	异植醇	—	—	—	0.43	0.25	0.30	0.92	0.87
	23	植物醇	0.30	0.09	0.17	0.40	0.11	0.11	0.39	0.68

续表1

类型	序号	名称	相对含量(%)								
			原料	一翻	二翻	三翻	四翻	五翻	六翻	七翻	
碳氢化合物	24	环氧柠檬烯	0.34	—	—	—	—	—	—	—	
	25	柠檬烯	0.31	—	—	—	—	—	—	—	
	26	α -蒎品烯	0.35	0.10	0.18	0.15	0.23	0.08	—	—	
	27	愈创木烯	0.80	0.63	0.57	0.67	0.48	0.71	0.45	0.67	
	28	α -柏木烯	2.67	1.51	1.65	1.68	1.42	1.42	1.62	3.56	
	29	γ -瑟林烯	0.55	0.36	0.33	0.27	0.33	0.41	0.20	0.22	
	30	正十三烷	2.41	1.59	1.98	1.37	1.14	1.26	0.73	1.07	
	31	2,6,10-三甲基十四烷	0.85	0.55	0.61	0.59	0.47	0.53	0.44	0.84	
	32	十七烷	1.04	0.68	0.90	0.86	0.65	0.63	0.59	1.14	
	33	α -甲基萘	1.09	0.58	0.85	0.59	0.46	0.50	0.27	0.35	
	34	β -甲基萘	1.11	0.57	0.73	0.50	0.33	0.44	0.21	0.44	
	35	1,6-二甲基萘	1.52	0.94	1.10	0.98	0.69	0.76	0.45	0.52	
	36	1,3-二甲基萘	1.07	0.73	0.97	0.81	0.52	0.56	0.30	0.29	
	37	2,7-二甲基萘	0.93	0.68	0.65	0.65	0.45	0.53	0.32	0.25	
醛类	38	1,4-二甲基萘	0.54	0.42	0.58	0.59	0.43	0.54	0.44	0.30	
	39	2,3,6-三甲基萘	0.33	0.31	0.45	0.34	—	—	—	—	
	40	β -环柠檬醛	0.40	0.20	0.21	0.28	0.25	0.26	0.20	0.17	
	41	乙位环高柠檬醛	0.44	0.63	0.82	0.69	0.95	1.09	0.90	0.81	
	42	香芹酮	0.19	—	—	—	—	—	—	—	
	43	烟酮	—	—	—	—	—	—	—	0.98	
	酮类	44	α -紫罗酮	0.97	0.71	0.67	0.70	0.53	0.47	0.35	0.22
		45	香叶基丙酮	1.92	1.07	0.90	1.43	0.92	0.53	0.51	0.37
		46	紫萘酮	0.52	0.38	0.48	0.21	0.32	0.30	0.27	—
		47	β -紫罗酮	4.77	3.13	2.25	2.33	2.29	2.72	1.75	1.47
酚类	48	对氨基间甲酚	0.42	1.31	1.14	0.69	0.70	0.67	0.92	0.20	
	49	4-甲基愈创木酚	0.28	0.61	0.49	0.90	1.12	1.96	2.03	1.96	
	50	香芹酚	0.29	—	—	—	—	—	—	—	
	51	2,6-二叔丁基对甲酚	0.37	0.41	0.67	0.55	0.29	0.37	0.26	0.39	
	52	水杨酸甲酯	2.01	0.64	0.44	0.49	0.62	0.49	0.50	0.39	
	53	δ -十四内酯	0.29	—	—	—	—	—	—	—	
	54	十二碳烯酸羟甲基酯	0.52	0.31	—	—	—	—	—	—	
	55	异戊酸香叶酯	0.74	0.62	0.52	0.64	0.61	0.78	0.64	—	
	酯类	56	6-酮-十五酸甲酯	1.48	2.04	1.46	1.34	1.54	2.03	1.20	1.17
		57	6-酮-十四酸甲酯	1.39	0.86	1.12	1.04	0.87	0.89	0.85	0.57
58		二氢猕猴桃内酯	6.16	5.43	5.71	4.37	5.36	6.57	3.95	2.33	
59		邻苯二甲酸二异丁酯	0.99	2.00	0.83	0.86	1.04	1.12	0.98	0.67	
60		十六酸甲酯	0.36	0.76	1.53	0.92	0.72	0.93	0.59	0.56	
61		邻苯二甲酸二丁酯	1.57	1.98	1.02	1.04	1.25	1.34	1.36	1.16	
62		月桂酸戊酯	2.30	2.16	2.32	2.32	2.01	2.09	1.58	1.19	

续表 1

类型	序号	名称	相对含量(%)							
			原料	一翻	二翻	三翻	四翻	五翻	六翻	七翻
酸类	63	棕榈油酸	0.57	0.24	0.62	0.25	0.25	0.38	0.20	0.26
	64	4-氟-3-甲氧基苯甲酸	0.51	0.48	0.74	0.46	0.56	0.73	0.46	—
	65	环氧十八烷酸	0.27	0.48	0.48	0.50	0.50	0.66	0.38	0.40
	66	二十烯酸	—	0.37	0.33	0.38	0.40	0.34	0.42	0.42
甲氧基苯	67	2,3-二甲氧基甲苯	—	—	—	—	—	—	0.60	0.41
	68	1,2,3-三甲氧基苯	—	0.94	1.06	1.55	1.71	2.93	3.57	2.12
	69	1,2,4-三甲氧基苯	0.52	0.34	0.71	2.02	1.65	3.20	4.50	2.84
其他	70	咖啡因	13.13	23.42	24.98	26.44	18.38	16.57	22.93	13.13
	71	N-乙基琥珀酰亚胺	0.09	0.40	0.55	0.58	0.86	1.12	1.21	0.09
		物质种类	65	57	56	57	57	57	57	53
		香气总量	88.26	87.98	87.41	87.93	90.08	89.27	90.68	84.44

注“—”为未检出。

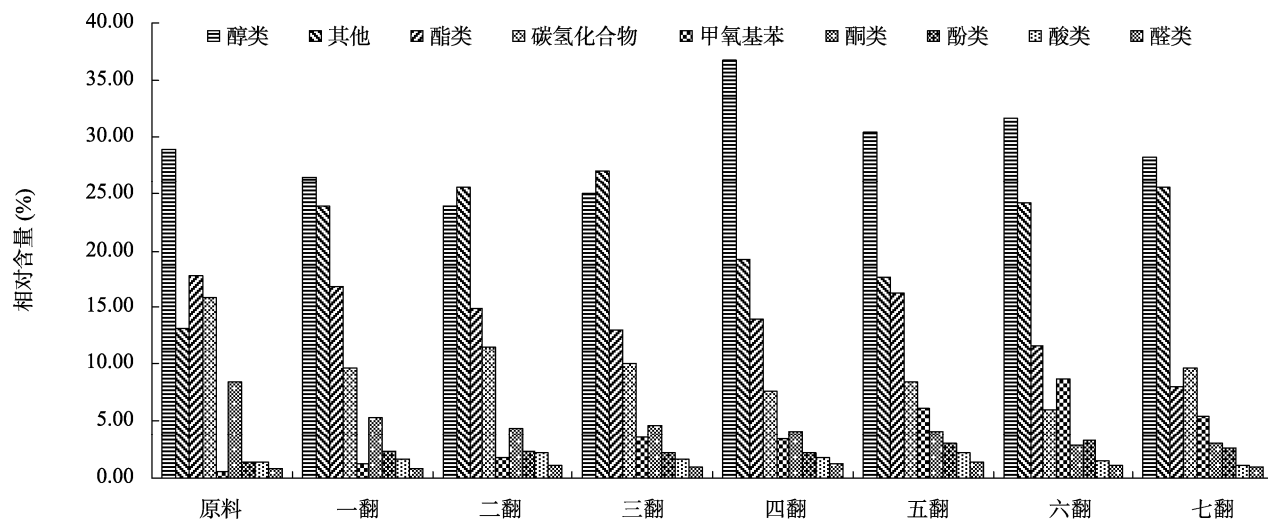


图 1 普洱茶渥堆发酵过程中香气成分的变化情况

Fig. 1 Changes of aroma components during Pu'er tea fermentation process

3.2 普洱茶渥堆发酵过程中香气成分组成变化

由图 1 可见, 晒青茶原料的香气成分中, 以醇类香气为主, 其次酯类、碳氢化合物类和酮类香气也较丰富。在渥堆发酵过程中, 随翻堆次数的增加, 醇类化合物呈波浪式变化趋势, 先降低后增加再降低, 第四翻时达到最高为 36.78%, 与原料相比增幅达 27.4%, 第七翻时为 28.31%, 与原料(28.68%)相比略为降低; 酯类化合物呈波浪式变化趋势, 先降低后增加再降低, 七翻时最低为 8.04%, 与原料相比降低 54.9%; 碳氢化合物呈波浪式变化趋势, 先降低后增加再降低, 六翻时最低为 6.02%, 与原料相比降低

62.2%; 酮类化合物呈降低趋势, 六翻时最低, 与原料相比降低 65.6%; 酚类化合物呈增加趋势, 六翻时含量最高为 3.21%, 与原料相比增加 2 倍; 甲氧基苯类呈增加趋势, 六翻时含量最高为 8.67%, 与原料相比增加 15.7 倍; 醛类和酸类含量变化不大。

3.3 普洱茶渥堆发酵过程中主要香气成分的变化

由图 2、图 3 可见, 茶叶中的主要萜烯醇化合物为芳樟醇及其氧化物(I、II、III、IV)、 α -松油醇等, 普洱茶渥堆发酵过程中, 随着翻堆次数的增加, 芳樟醇呈波浪式降低趋势, 七翻含量最低为 0.87%, 与原料相比降低 78.7%;

芳樟醇氧化物(I、II、III、IV)均呈波浪式增加趋势,七翻最高含量分别为4.17%、6.82%、5.10%、4.75%,与原料相比分别增加78.2%、68.4%、1.85倍、68.9%; α -松油醇含量呈波浪式增加趋势,五翻最高含量为4.75%,与原料相比增加40.1%。这表明在普洱茶渥堆发酵过程中,微生物代谢产生的热量与胞外酶,共同作用引起芳樟醇大量被氧化和糖苷类物质水解释放出萜烯醇类香气,芳樟醇及其氧化物、萜烯醇类是普洱茶中重要的香气贡献物,多呈花香、甜香,同时伴有木香,对普洱陈香有较好的协调作用^[23,24];另外 α -松油醇的含量也存在增加趋势,这可能与普洱茶后发酵过程有很大关系^[25,26]。

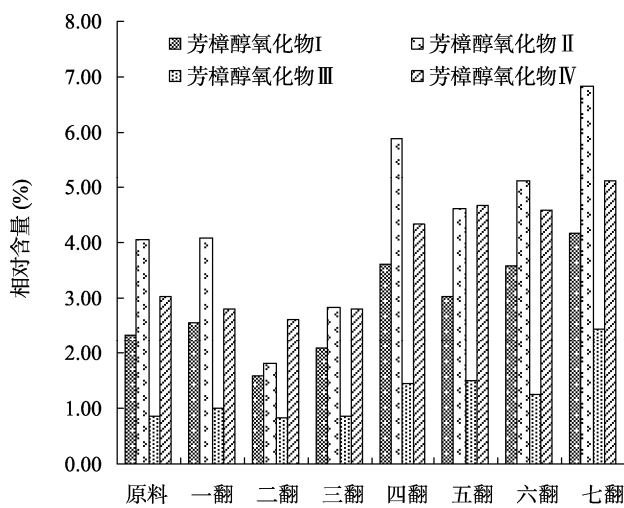


图2 芳樟醇氧化物的变化

Fig. 2 Changes of linalool oxides

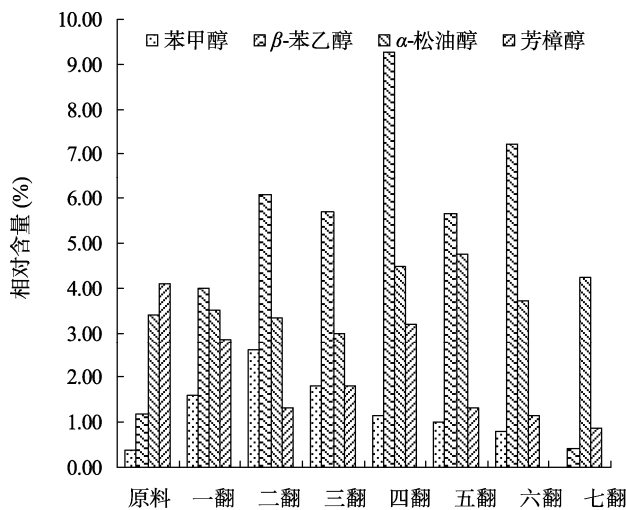


图3 主要醇类化合物的变化

Fig. 3 Changes of alcohols compounds

由图3可见,茶叶中的主要芳香族醇类化合物为苯甲醇和 β -苯乙醇,在普洱茶渥堆发酵过程中,随着翻堆次数的增加,苯甲醇呈现先增加后减少的趋势,在二翻时含量最高为2.61%,与原料相比增加5.87倍,到七翻时未检出苯甲醇; β -苯乙醇先增加后减少的趋势,在四翻时含量最高为9.28%,与原料相比增加6.80倍,而后降低,到七翻时含量最低为0.42%,与原料相比降低65.7%。苯甲醇具有微弱的苹果香气, β -苯乙醇具有玫瑰花香。脂肪酸的过氧化及降解等生成6个碳的醇类香气化合物,芳香族醇可由葡萄糖水解产生。

在碳氢化合物中,饱和烃对茶叶香气无多大贡献,不饱和烃起着重要的作用, α -柏木烯具有木香味,在普洱茶中含量也相对较高,这可能与普洱茶类似松木香

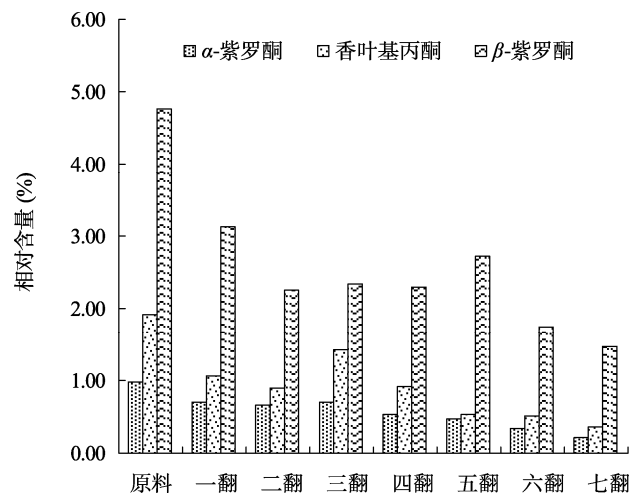


图4 主要酮类化合物的变化

Fig. 4 Changes of ketone compounds

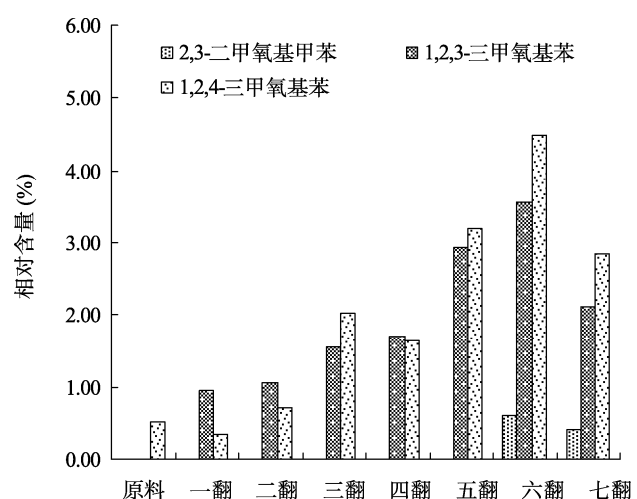


图5 主要甲氧基苯类化合物的变化

Fig. 5 Changes of methoxybenzene compounds

的独特陈香有关^[10], 在普洱茶渥堆发酵过程中, 随着翻堆次数的增加, α -柏木烯呈降低趋势, 五翻时含量最低, 为 1.42%, 在第七翻时骤然增加, 为 3.56%, 较五翻时增加 1.51 倍。

茶叶中的酯类化合物, 大多是由高级脂肪酸和低级醇类脱水缩合而成, 这些化合物的挥发性较差, 对香气贡献不大, 二氢猕猴桃内酯是酯类中最为丰富的香气成分, 是类胡萝卜素降解的产物, 具有香豆素香、麝香气的香气特征, 其对普洱茶陈香、木香的形成也有一定贡献^[8]。在普洱茶渥堆发酵过程中, 随着翻堆次数的增加, 二氢猕猴桃内酯呈降低趋势, 七翻时含量最低分别为 2.33%, 与原料相比分别降低 62.2%。

由图 4 可见, 茶叶中主要酮类物质为 α -紫罗酮、香叶基丙酮、 β -紫罗酮等, 在普洱茶渥堆发酵过程中, 随着翻堆次数的增加, α -紫罗酮、香叶基丙酮、 β -紫罗酮均呈降低趋势, 七翻时含量最低分别为 0.22%、0.37%、1.47%, 与原料相比分别降低 77.3%、80.7%、69.2%。酮类化合物是茶叶中一类重要的香气成分, 酮类香气可能是由于脂肪的热氧化降解和氨基酸的降解而形成的, β -紫罗兰酮具有紫罗兰花香且对木香也有贡献^[24]。

由图 5 可见, 茶叶中的主要甲氧基苯类化合物为 1,2,3-三甲氧基苯、1,2,4-三甲氧基苯, 其中 1,2,3-三甲氧基苯在原料中未检出。在普洱茶渥堆发酵过程中, 随着翻堆次数的增加, 六翻时含量最高为 3.57%; 1,2,4-三甲氧基苯均呈增加趋势, 六翻时含量最高为 4.50%, 与原料相比增加 7.65 倍。可能是因微生物代谢产生的热量与热化学作用, 共同作用引起儿茶素类物质降解和发生甲基化作用而生成^[27], 甲氧基苯赋予普洱茶(熟茶)陈香味, 同时还能增加茶汤滋味的醇厚感^[24]。普遍认为, 甲基苯类化合物的形成与普洱茶渥堆发酵中微生物的次生代谢及湿热作用关系极大, 且含量随着年份的增加而增加^[10]。

4 结论与讨论

普洱茶渥堆发酵过程中, 随着翻堆次数的增加, 醇类化合物呈波动趋势, 酮类、酯类和碳氢化合物化合物呈降低趋势, 酚类和甲氧基苯类化合物呈增加趋势, 醛类和酸类化合物变化不大; 其中萜烯醇类化合物芳樟醇呈波浪式降低趋势, 芳樟醇氧化物(I、II、III、IV)和 α -松油醇呈波浪式增加趋势; 芳香醇类化合物苯甲醇和 β -苯乙醇呈先增加后减少的趋势; 酮类化合物 α -紫罗酮、香叶基丙酮和 β -紫罗酮呈降低趋势; 二氢猕猴桃内酯呈降低趋势; α -柏木烯呈降低趋势, 在渥堆结束时骤然增加; 甲氧基苯类化合物 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯呈增加趋势。

本研究的结果表明, 普洱茶渥堆发酵过程中, 随着翻堆次数的增加, 醇类化合物呈波动趋势, 其中芳樟醇呈波浪式降低趋势, 芳樟醇氧化物呈增加趋势, 苯甲醇和 β -苯

乙醇呈先增加后减少的趋势, 渥堆结束时醇类化合物略为降低, 与吕海鹏等^[18]的研究结论“晒青毛茶在渥堆过程中香气组分中的醇类成分剧烈减少”不一致, 原因是笔者未将芳樟醇氧化物含量统计在醇类物质中, 而本研究中鉴定出的芳樟醇氧化物含量较高, 渥堆结束时, 芳樟醇氧化物总量为 18.54%, 占醇类物质总量的 65.5%, 与任洪涛等^[20]的研究结论“普洱茶在发酵过程中, 4 种芳樟醇氧化物的相对百分含量随发酵程度的加深而降低, 适度发酵的普洱茶, 其 4 种芳樟醇氧化物的含量增加至 15%~30%”一致。

本研究中 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯呈增加趋势, 在六翻时含量最高, 七翻时降低, 出现拐点, 与谷勋刚等^[28]的研究结果“甲基化作用受霉菌和酵母菌的联合催化所致, 因为最先发展起来的霉菌利用各种多糖作碳源, 代谢的结果产生大量的双糖和单糖, 促进了酵母菌的繁衍, 发酵前期正是酵母菌大量繁衍及霉菌共存时期, 后面霉菌数量逐渐减少, 缺少了霉菌的联合, 酵母菌无法继续促进甲基化作用扩大化, 导致 1,2,3-及 1,2,4-三甲氧基苯的含量不能持续增加”一致。

参考文献

- [1] GB/T 22111-2008 地理标志产品 普洱茶[S].
GB/T 22111-2008 Product of geographical indication-Pu'er tea [S].
- [2] Lu HP, Zhang YJ, Lin Z, *et al.* Processing and chemical constituents of Pu-erh tea: a review [J]. *Food Res Int*, 2013, 53(2): 608-618.
- [3] Hou Y, Shao WF, Xiao R, *et al.* Pu-erh tea aqueous extracts lower atherosclerotic risk factors in a rat hyperlipidemia model [J]. *Exp Gerontol*, 2009, 44(6/7): 434-439.
- [4] Kuo KL, Weng MS, Chiang CT, *et al.* Comparative studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of oolong, black, Pu-erh, and green tea leaves in rats [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(2): 480-489.
- [5] Lee LK, Foo KY. Recent advances on the beneficial use and health implications of Pu-erh tea [J]. *Food Res Int*, 2013, 53(2): 619-628.
- [6] 曹艳妮, 刘通讯. 不同储存时间普洱茶和熟茶香气成分分析[J]. *食品工业*, 2011, 10: 64-67.
Cao YN, Liu TX. Analysis of aroma composition in Pu-erh raw and ripe teas with different storage time [J]. *Food Ind*, 2011, 10: 64-67.
- [7] 任洪涛, 周斌, 夏凯国, 等. 不同级别普洱茶生茶香气成分比较分析[J]. *现代食品科技*, 2010, 26(9): 1013-1017.
Ren HT, Zhou B, Xia KG, *et al.* Analysis and comparison of the aroma components of Pu-er raw tea in different grades [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2010, 26(9): 1013-1017.
- [8] 张曦, 刘玲, 童华荣. 普洱茶生茶挥发性成分分析[J]. *西南农业学报*, 2014, 27(1): 94-97.
Zhang X, Liu L, Tong HR. Analysis of volatile components of Pu-erh tea [J]. *Southwest China J Agric Sci*, 2014, 27(1): 94-97.
- [9] 田小军, 王杰, 邓宇杰, 等. 不同贮藏时间普洱茶生茶的特征香气成分分析[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(12): 194-202.
Tian XJ, Wang J, Deng YJ, *et al.* Characteristic aroma components analysis of raw Pu'er tea at different storage time [J]. *Food Ferment Ind*, 2016, 42(12): 194-202.

- [10] 张灵芝, 王登良, 陈维信, 等. 不同贮藏时间的普洱茶香气成分分析[J]. 园艺学报, 2007, 34(2): 504-506.
Zhang LZ, Wang DL, Chen WX, *et al.* Determination of volatiles of Pu'er tea stored for different lengths time [J]. Acta Horti Sin, 2007, 34(2): 504-506.
- [11] 谢吉林, 张俦, 陈孝权, 等. 普洱熟茶贮藏过程中香气变化分析[J]. 食品科学, 2015, 36(10): 154-157.
Xie JL, Zhang W, Chen XQ, *et al.* Analysis of changes in aroma constituents during storage of ripe Pu'er tea [J]. J Food Sci, 2015, 36(10): 154-157.
- [12] 刘通讯, 谭梦珠. 不同干燥温度对普洱茶多酚类物质和香气成分的影响[J]. 现代食品科技, 2015, 31(4): 264-271.
Liu TX, Tan MZ. The effect of different drying temperatures on the transformation of polyphenols and volatile aroma components in Pu-erh tea [J]. Mod Food Sci Technol, 2015, 31(4): 264-271.
- [13] Zhu Y, Luo Y, Wang P, *et al.* Simultaneous determination of free amino acids in Pu-erh tea and their changes during fermentation [J]. Food Chem, 2016, 194: 643-649.
- [14] 吕海鹏, 张悦, 杨婷, 等. 影响普洱茶香气品质的关键香气成分分析[J]. 现代食品科技, 2015, 31(12): 394-399.
Lv HP, Zhang Y, Yang T, *et al.* Key aroma constituents affecting the quality of ripened Pu-erh tea [J]. Mod Food Sci Technol, 2015, 31(12): 394-399.
- [15] 曹艳妮, 刘通讯. 普洱生茶和熟茶香气成分中萜烯类和甲氧基苯类成分分析[J]. 食品工业科技, 2012, 5: 128-133.
Cao YN, Liu TX. Analysis of terpenes and methoxybenzene components in aroma composition of Pu-erh raw tea and ripe tea [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, 5: 128-133.
- [16] 陈春梅, 陈峥, 史怀, 等. 陈年普洱茶特征风味成分分析[J]. 茶叶科学, 2014, 34(1): 45-54.
Chen CM, Chen Z, Shi H, *et al.* Analysis on characteristic flavor components of aged Pu-erh tea [J]. J Tea Sci, 2014, 34(1): 45-54.
- [17] 吕海鹏, 钟秋生, 施江, 等. 普洱茶挥发性成分指纹图谱研究[J]. 茶叶科学, 2014, 34(1): 71-78.
Lv HP, Zhong QS, Shi J, *et al.* Study on fingerprint on volatile constituents of Pu-erh tea [J]. J Tea Sci, 2014, 34(1): 71-78.
- [18] 吕海鹏, 钟秋生, 王力, 等. 普洱茶加工过程中香气成分的变化规律研究[J]. 茶叶科学, 2009, 29(2): 95-101.
Lv HP, Zhong QS, Wang L, *et al.* Study on the change of aroma constituents during Pu-erh tea process [J]. J Tea Sci, 2009, 29(2): 95-101.
- [19] 吕才有, 单治国, 刘勤晋. 普洱茶后发酵中香气成分变化研究[J]. 食品科学, 2009, 30(10): 252-256.
Lv CY, Shan ZG, Liu QJ. Analysis of changes in aroma components of Pu-erh tea during post-fermentation process [J]. J Food Sci, 2009, 30(10): 252-256.
- [20] 任洪涛, 周斌, 夏凯国, 等. 不同发酵程度普洱茶香气成分的比较分析[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(11): 23-26.
Ren HT, Zhou B, Xia KG, *et al.* Compare analysis of fermentation degree on the aromatic components of Pu-erh tea [J]. Food Res Dev, 2011, 32(11): 23-26.
- [21] 陈保, 刘新月, 蒲泓君, 等. 不同普洱茶原料渥堆发酵过程中主要化学成分的变化研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(4): 1279-1285.
Chen B, Liu XY, Pu HJ, *et al.* Study on variation of main chemical components during Pu'er tea fermentation process of different raw materials [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(4): 1279-1285.
- [22] 陈保, 蒲泓君, 刀仕强, 等. 普洱茶渥堆发酵过程中金属元素的变化研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(4): 246-249.
Chen B, Pu HJ, Dao SQ, *et al.* Study on variation of metal elements during Pu'er tea fermentation [J]. Sci Technol Food Ind, 2016, 37(4): 246-249.
- [23] 吕世懂, 孟庆雄, 徐咏全, 等. 普洱茶香气分析方法及香气活性物质研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(11): 292-298.
Lv SD, Meng QX, Xu YQ, *et al.* Recent progress in aroma analysis methods and aroma active compounds in Pu-erh tea [J]. J Food Sci, 2014, 35(11): 292-298.
- [24] Du L, Li J, Li W, *et al.* Characterization of volatile compounds of Pu-erh tea using solid-phase micro extraction and simultaneous distillation-extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Res Int, 2014, 57: 61-70.
- [25] 吕世懂, 姜东华, 杨凡, 等. 顶空固相微萃取/GC-MS 分析普洱熟茶与安化黑茶香气成分[J]. 热带作物学报, 2013, 34(8): 1583-1591.
Lv SD, Jiang DH, Yang F, *et al.* Analysis of aroma components between Pu-erh ripe tea and anhua dark tea by headspace solid-phase micro extraction and GC-MS [J]. Chin J Trop Crops, 2013, 34(8): 1583-1591.
- [26] Lv HP, Zhong QS, Lin Z, *et al.* Aroma characterisation of Pu-erh tea using headspace-solid phase micro extraction combined with GC/MS and GC-olfactometry [J]. Food Chem, 2012, 130(4): 1074-1081.
- [27] Xu X, Yan M, Zhu Y. Influence of fungal fermentation on the development of volatile compounds in the Puer tea manufacturing process [J]. Eng Life Sci, 2005, 5(4): 382-386.
- [28] 谷勋刚, 张正竹, 宁井铭, 等. 普洱茶渥堆阶段游离态香气成分分析及含量变化[J]. 食品发酵与工业, 2010, 36(4): 161-164.
Gu XG, Zhang ZZ, Ning JM, *et al.* Analysis of free aroma components and change of aroma components during the pile-fermentation process of Pu-erh tea [J]. Food Ferment Ind, 2010, 36(4): 161-164.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



陈保, 硕士, 工程师, 主要研究方向为茶叶分析测试。

E-mail: chenbao8493@163.com