

溶剂辅助风味蒸发-气相色谱-质谱联用法分析 普洱茶干茶与茶汤的挥发性成分

李 季, 肖 凌, 陆昌琪, 毛世红, 童华荣*

(西南大学食品科学学院, 重庆 400715)

摘要: **目的** 比较普洱茶干茶和冲泡后茶汤的挥发性成分, 并测定特征性香气物质甲氧基苯的绝对含量。**方法** 采用溶剂辅助风味蒸发对 3 个不同年份的普洱茶干茶和冲泡后茶汤的挥发性成分进行提取, 运用气相色谱-质谱联用技术分析挥发性组分, 并利用气相色谱峰面积外标法, 测定 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯的绝对含量。**结果** 从普洱茶中共鉴定出 70 种挥发性物质, 干茶含 70 种, 茶汤含 45 种; 鉴定出的化合物包括甲氧基苯类、酸类、酮类、酯类、内酯类、醇类、碳氢类、醛类、醚类, 其中含量最多的物质是甲氧基苯类化合物; 干茶中 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯的含量分别为 7.78 $\mu\text{g/g}$ 和 5.37 $\mu\text{g/g}$, 茶汤中为 3.45 $\mu\text{g/g}$ 和 2.73 $\mu\text{g/g}$ 。**结论** 冲泡后茶汤挥发性成分明显减少, 2 种甲氧基苯化合物含量明显降低, 本研究可为普洱茶中挥发性成分的含量测定提供参考。

关键词: 普洱茶; 挥发性成分; 甲氧基苯化合物; 溶剂辅助风味蒸发; 气相色谱-质谱法

Analysis of volatile components of tea leaves and infusion from Pu-erh tea by solvent-assisted flavor evaporation combined with gas chromatography-mass spectrometry

LI Ji, XIAO Ling, LU Chang-Qi, MAO Shi-Hong, TONG Hua-Rong*

(College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

ABSTRACT: Objective To compare the volatile components of tea leaves and infusion from Pu-erh tea and determine the absolute content of characteristic aroma components (methoxyphenolic compounds). **Methods** The volatile components of tea leaves and infusion from Pu-erh tea in 3 different years were analyzed by solvent assisted flavor evaporation (SAFE) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The absolute content of characteristic aroma components of Pu-erh tea (1,2,3-trimethoxybenzene and 1,2,4-trimethoxybenzene) were determined by external standard method of gas chromatography. **Results** A total of 70 volatile compounds were identified in Pu-erh tea, including methoxyphenolic compounds, acids, ketones, esters, lactones, alcohols, hydrocarbons, aldehydes, ether. Seventy compounds were found in tea leaves and 45 compounds were found in tea infusion, respectively. Methoxyphenolic compounds were the most abundant compounds in both leaves and infusion. The absolute content of 1,2,3-trimethoxybenzene and 1,2,4-trimethoxybenzene in leaves were 7.78 $\mu\text{g/g}$ and 5.37 $\mu\text{g/g}$, and the content in infusion were 3.45 $\mu\text{g/g}$ and 2.73 $\mu\text{g/g}$, respectively. **Conclusion** The volatile components of tea infusion are significantly reduced, and the absolute content of two methoxyphenolic compounds

*通讯作者: 童华荣, 博士, 教授, 主要研究方向为茶学与感官科学。E-mail: huart@swu.edu.cn

*Corresponding author: TONG Hua-Rong, Ph.D, Professor, College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China. E-mail: scidream@126.com

also decrease significantly in infusion. This paper can provide references for the determination of volatile components in Pu-erh tea.

KEY WORDS: Pu-erh tea; volatile components; methoxyphenolic compounds; solvent assisted flavor evaporation; gas chromatography-mass spectrometry

1 引 言

普洱茶主要产于中国云南, 是以大叶茶(*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze var. *assamica* Kitamura)的晒青毛茶为原料, 经特殊发酵工艺制成的黑茶^[1]。在中国等亚洲国家, 普洱茶因其独特的风味和保健功能^[2-4]备受人们喜爱。香气是影响茶叶风味和价格的重要因素, 虽然茶叶中的挥发性香气组分只占干茶的极小部分, 约 0.01%~0.02%, 但对茶叶品质形成起到重大作用^[5]。发酵后的普洱茶中含有丰富的 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯, 它们在红茶、绿茶中并未被检测到^[6], 研究表明这些物质具有典型的陈香霉味, 是构成普洱茶独特陈香品质的关键化合物^[7-9]。

目前, 提取挥发性香气成分的方法主要有同时蒸馏萃取法(simultaneous distillation extraction, SDE)、顶空固相微萃取法(headspace solid-phase microextraction, HS-SPME)和溶剂辅助风味蒸发法(solvent assisted flavor evaporation, SAFE)等。SDE 能同时分离和浓缩挥发物, 但提取温度相对较高, 易造成香气物质结构变化, 生成新挥发物^[10]; HS-SPME 操作简便, 无溶剂参与, 但是存在萃取纤维头吸附容量有限、选择性差等问题^[11]; SAFE 是一种在较低温度下从复杂基质里全面有效提取挥发性成分的方法, 利用溶剂在低温和高真空条件下的迅速汽化, 辅助目标香气物质蒸发, 除去难挥发物质, 使萃取物表现出样品原有的自然香味^[12,13]。已有研究对比了 3 种萃取方法的提取效果, 发现 SAFE 对挥发性风味物质的破坏较小, 热敏性香味成分损失少^[14,15], 是最合适的香气提取方法^[16]。SAFE 已成功应用于茶叶香气成分的提取, Kumazawa 等^[17]采用 SAFE 提取斯里兰卡 Dimbula 红茶茶汤的香气成分, Schuh 等^[18]通过 SAFE 分别提取印度 Darjeeling 红茶干茶和茶汤的香气物质, Mizukami 等^[19]运用 SAFE 提取了日本红茶的挥发性香气物质。然而, 目前暂无 SAFE 法提取普洱茶香气成分的报道。

本研究首次采用 SAFE 结合气相色谱-质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析比较普洱茶干茶与茶汤挥发性物质的种类和相对含量, 同时运用气相色谱(gas chromatography, GC), 结合峰面积外标法测定干茶与茶汤中 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯的绝对含量。本研究可为普洱茶中挥发性成分的含量测定提供参考, 也为进一步探究热水冲泡对茶叶香气的影响奠定

基础。

2 材料与方 法

2.1 样品与试剂

3 种普洱茶样品都是由云南宜良的祥龙茶厂提供的一级普洱散茶, 分别生产于 2006、2009、2010 年。

正构烷烃混合标品(C₇-C₃₀, 美国 Supelco 公司); 1,2,3-三甲氧基苯(>99%)、1,2,4-三甲氧基苯(>97%)、3,4,5-三甲氧基苯(>98%)、3,4-二甲氧基苯(99%), 购于日本 TCI 株式会社; 二氯甲烷(色谱纯, 成都科龙化工试剂厂); 无水硫酸钠(分析纯, 成都科龙化工试剂厂)。

2.2 仪器与设备

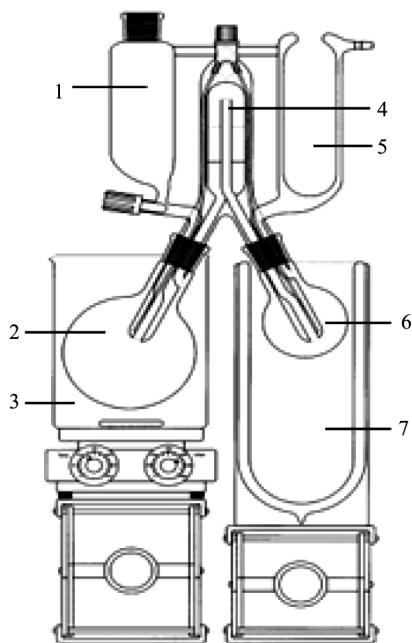
QP2010 Plus 气相质谱联用仪(日本 Shimadzu 公司); trace1300 气相色谱仪(美国 Thermo 公司); 超纯水发生器(美国 Millipore 公司); SAFA 装置(日本 Kiriya 制作所); HB10 旋转蒸发器(德国 IKA 公司); 涡轮分子真空泵(英国 Edwards 公司); FA2004A 电子天平(上海精天电子仪器有限公司); HH-6 数显恒温水浴锅(常州普天仪器制造公司); 氮吹仪(天津恒奥科技发展有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 SAFE 提取茶样中的挥发性化合物

干茶: 准确称取 9 g 粉碎后的茶样, 置于 100 mL 具塞锥形瓶, 加入 40 mL 二氯甲烷萃取 3 h, 倒出提取液后加入 30 mL 二氯甲烷萃取 13 h, 再次倒出提取液后加入 30 mL 二氯甲烷萃取 1 h, 合并 5 次萃取的提取液, 过滤。将滤液转移至 SAFE 装置(图 1^[13])滴液漏斗(1)中, 设定恒温水浴(3)温度 40 °C, 在冷阱(5)和保温瓶(7)中加入液氮, 真空泵使系统压力降至 5×10^{-3} Pa, 打开滴液漏斗, 使溶液缓慢、均匀地滴入蒸馏烧瓶(2), 约 30 min 后完成萃取。接收瓶(6)中的萃取液被旋转蒸发浓缩至 2 mL, 再氮吹至 0.4 mL, 封口置于 -40 °C 冰箱备用。3 种干茶的提取物分别标记为 Y06、Y09、Y10。

茶汤: 准确称取 9 g 茶样, 置于 500 mL 具塞锥形瓶, 用 450 mL 沸水冲泡 3 min, 滤掉茶渣, 水浴冷却至室温后, 将茶汤转移至分液漏斗, 用 100 mL 二氯甲烷萃取 3 次(40, 30, 30 mL), 每次倒出下层有机溶液, 合并提取液后加入 5 g 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液按上述 SAFE 方法萃取浓缩, 置于 -40 °C 冰箱备用。3 种茶汤的提取物分别标记为 T06、T09、T10。



1. 滴液漏斗(drop funnel); 2. 蒸馏烧瓶(distillation flask); 3. 恒温水浴(constant temperature water bath); 4. 蒸馏头(distillation head); 5. 冷阱(cold trap); 6. 接受瓶(receiving bottle); 7. 保温瓶(thermos bottle)

图 1 SAFE 装置示意图

Fig. 1 Schematic of the equipment for SAFE

2.3.2 GC-MS 分析挥发性成分

GC 条件: 色谱柱为 DB-5MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm) 石英毛细管柱; 载气为氦气(纯度>99.999%); 流速 1 mL/min; 进样口温度 250 °C; 不分流进样模式; 进样体积 1 μL; 初始温度 40 °C, 以 5 °C/min 升到 130 °C, 然后以 10 °C/min 升到 150 °C, 再以 3 °C/min 升到 180 °C, 保持 1 min, 最后以 10 °C/min 升到 260 °C, 保持 3 min。

MS 条件: EI 离子源; 能量 70 eV; 离子源温度 250 °C; 接口温度 250 °C; 溶剂延迟 4 min; 扫描范围 40~400 u。

数据处理: GC-MS 得到的质谱数据运用 NIST 08s 谱库检索, 并进一步结合保留指数(retention index, RI)定性。各组分的保留指数由其保留时间和相邻正构烷烃的保留时间计算得到, 该值与文献中的保留指数对比定性。对构成普洱茶特殊陈香品质有重要贡献的典型甲氧基化合物通过标准品进一步定性。同时采用峰面积归一法计算各组分的相对含量。

2.3.3 GC 测定甲氧基苯化合物含量

标品配制: 精确称取 10 mg 1,2,3-三甲氧基苯, 量取 10 μL 1,2,4-三甲氧基苯于 25 mL 容量瓶中, 加入二氯甲烷定容, 摇匀, 配制成混合标品储备液。分别取 0.1、0.5、2、5、10 mL 储备液于 10 mL 容量瓶, 加入二氯甲烷定容, 摇匀, 配制成 5 浓度梯度的混合标品工作液, 置于 4 °C 冰箱备用。

GC 条件: 色谱柱为 DB-5(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)石英毛细管柱; 载气为高纯度氮气; 流速 1 mL/min; 进样口温度 250 °C; FID 检测器温度 250 °C; 不分流进样模式; 进样体积 1 μL; GC 柱温箱升温程序与 GC-MS 一致。

定量方法: 以甲氧基苯标品浓度为横坐标, 对应峰面积为纵坐标, 分别绘制 2 种甲氧基苯化合物的标准工作曲线并拟合线性方程, 求出相关系数(r^2)。将各样品对应的甲氧基苯化合物峰面积代入方程求得浓度。各样品做 3 次重复实验。

3 结果与分析

3.1 普洱茶干茶与茶汤挥发性成分鉴定

从普洱茶中分离鉴定出 70 种挥发性化合物, 其中干茶中含 70 种, 茶汤中含 45 种, 所鉴定出的挥发性成分结果见表 1。

表 1 干茶和茶汤挥发性成分鉴定结果

Table 1 Identification results of volatile compounds in tea leaves and tea infusion

序号	保留指数	化合物	鉴定方法	相对含量(%)					
				Y06	Y09	Y10	T06	T09	T10
1	806	己醛 hexanal	MS, RI	1.86	-	0.68	2.47	3.53	4.98
2	817	乙酸丁酯 butyl acetate	MS, RI	5.31	3.68	4.15	5.24	-	-
3	836	2,4-二甲基-1-庚烯 2,4-dimethyl-1-heptene	MS, RI	2.61	0.79	1.69	1.82	2.76	2.74
4	852	异戊酸 isovaleric acid	MS, RI	-	1.54	1.42	-	-	-
5	869	2-甲基丁酸 2-methylbutyric acid	MS, RI	-	1.50	-	-	-	-
6	898	环己酮 cyclohexanone	MS, RI	0.80	0.40	0.68	0.56	0.15	-
7	901	戊酸 valeric acid	MS, RI	-	0.34	-	-	-	-
8	907	庚醛 heptaldehyde	MS, RI	-	0.61	-	0.11	0.28	0.62

续表 1

序号	保留 指数	化合物	鉴定方法	相对含量(%)					
				Y06	Y09	Y10	T06	T09	T10
9	920	γ -丁内酯 γ -butyrolactone	MS, RI	-	1.52	0.33	-	-	-
10	957	γ -戊内酯 γ -valerolactone	MS, RI	-	2.06	0.96	-	0.12	-
11	970	苯甲醛 benzaldehyde	MS, RI	1.25	1.63	0.69	-	-	-
12	1006	辛醛 octanal	MS, RI	0.17	-	1.59	-	-	-
13	1009	δ -己醇内酯 δ -hexanolactone	MS, RI	1.63	-	-	0.76	-	-
14	1011	己酸 hexanoic acid	MS, RI	0.36	3.65	2.03	0.04	-	-
15	1029	(-)-柠檬烯 (S)-(-)-limonene	MS, RI	-	0.29	0.60	-	-	-
16	1036	2,2,6-三甲基环庚烷 2,2,6-trimethylcyclohexanone	MS, RI	-	0.77	0.95	0.38	0.13	0.67
17	1072	月桂烯醇 7-octen-2-ol, 2-methyl-6-methylene-	MS, RI	0.51	1.41	1.18	0.32	0.84	1.28
18	1076	芳樟醇氧化物 I linalool oxide I	MS, RI	1.65	1.96	2.07	3.98	3.36	4.98
19	1092	芳樟醇氧化物 II linalool oxide II	MS, RI	3.61	3.87	2.29	4.44	5.34	6.52
20	1107	壬醛 nonanal	MS, RI	1.18	1.31	1.19	-	0.14	-
21	1114	四氢香叶醇 3,7-dimethyl-1-octanol	MS, RI	2.32	0.53	-	0.77	-	-
22	1118	2,6-二甲基环己醇 2,6-dimethylcyclohexanol	MS, RI	-	1.27	3.01	-	2.35	4.22
23	1124	庚酸 heptanoic acid	MS	2.07	0.51	-	-	-	-
24	1127	异佛尔酮 isophorone	MS, RI	-	0.58	-	0.43	0.40	-
25	1130	异辛酸 2-ethylhexanoic acid	MS, RI	8.02	0.24	1.00	0.17	-	-
26	1139	4-萜烯醇 4-carvomenthenol	MS, RI	-	-	0.13	-	-	-
27	1190	辛酸 octanoic acid	MS, RI	-	2.70	2.22	-	0.87	0.40
28	1202	藏红花醛 safranal	MS, RI	-	0.90	0.51	-	0.52	0.62
29	1208	癸醛 decanal	MS, RI	-	1.05	0.46	-	0.61	-
30	1214	α -松油醇 α -terpineol	MS, RI	-	2.27	2.67	2.06	2.35	2.75
31	1248	3,4-二甲氧基甲苯 3,4-dimethoxytoluene	MS, RI, STD	1.51	1.35	1.99	-	0.55	0.90
32	1254	苜基丁基醚 benzyl butyl ether	MS, RI	-	-	1.05	-	-	-
33	1279	壬酸 nonanoic acid	MS, RI	0.70	3.46	3.09	-	3.00	1.81
34	1291	2-十一酮 2-undecanone	MS, RI	-	0.96	0.31	-	-	-
35	1301	1-甲基萘 1-methylnaphthalene	MS, RI	0.01	0.36	0.15	0.31	-	0.55
36	1310	1,2,3-三甲氧基苯 1,2,3-trimethoxybenzene	MS, RI, STD	19.78	4.74	4.98	33.10	12.01	11.34
37	1322	1,2-二甲氧基-4-乙基苯 1,4-dimethoxy-2-ethylbenzene	MS, RI	-	1.49	0.38	-	0.39	0.79
38	1357	1,1,6-三甲基-1,2-二氢萘 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene	MS, RI	-	1.30	1.20	-	-	-
39	1375	1,2,4-三甲氧基苯 1,2,4-trimethoxybenzene	MS, RI, STD	5.96	4.86	3.89	6.58	5.48	2.87
40	1388	十二醇 1-dodecanol	MS	0.46	0.54	0.66	2.66	1.72	2.56
41	1400	十四烷 tetradecane	MS, RI	4.73	2.86	3.31	3.26	5.72	6.27
42	1401	3,4,5-三甲氧基甲苯 3,4,5-trimethoxytoluene	MS, RI, STD	-	0.56	0.78	1.98	0.89	1.30
43	1402	六氢假紫罗兰酮 6,10-dimethylundecan-2-one	MS, RI	-	1.10	1.18	-	-	-

续表 1

序号	保留指数	化合物	鉴定方法	相对含量(%)					
				Y06	Y09	Y10	T06	T09	T10
44	1404	2-丁基辛醇 2-butyl-1-octanol	MS, RI	0.11	0.64	0.79	2.25	0.69	-
45	1408	十二醛 dodecyl aldehyde	MS, RI	0.96	-	-	-	-	-
46	1410	长叶烯 (+)-longifolene	MS, RI	-	0.80	1.14	-	-	-
47	1415	(-)- α -柏木烯 (-)- α -cedrene	MS, RI	0.13	0.96	0.83	-	-	-
48	1421	α -紫罗酮 α -ionone	MS, RI	-	1.41	1.45	-	0.94	1.32
49	1425	(+)- β -柏木烯 (+)- β -cedrene	MS, RI	-	0.08	0.50	-	-	-
50	1439	1,2,3,4-四甲氧基苯 1,2,3,4-tetramethoxybenzene	MS, RI	0.55	1.70	1.75	-	2.18	0.89
51	1445	香叶基丙酮 geranylacetone	MS, RI	-	2.71	2.92	-	-	-
52	1452	酞酸二甲酯 dimethyl phthalate	MS, RI	1.75	0.54	-	2.33	-	-
53	1479	β -紫罗酮 β -ionone	MS, RI	1.13	2.82	2.50	0.61	1.07	1.95
54	1490	鸢尾酮 irone	MS, RI	-	1.12	-	0.39	1.57	1.88
55	1500	十五烷 pentadecane	MS, RI	2.36	2.09	2.62	1.10	-	0.38
56	1506	橙花叔醇 nerolidol	MS	0.34	0.71	0.75	-	-	-
57	1535	二氢猕猴桃内酯 dihydroactinidiolide	MS, RI	13.14	9.12	12.02	16.15	26.78	30.91
58	1549	正壬基环己烷 nonylcyclohexane	MS, RI	0.74	0.65	0.78	-	-	-
59	1584	2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	MS, RI	1.35	1.40	2.06	0.75	1.17	0.87
60	1705	苯甲酸乙基己酯 2-ethylhexyl benzoate	MS, RI	-	1.87	0.79	-	-	-
61	1789	2-己基-1-癸醇 2-hexyl-1-decanol	MS, RI	1.91	1.04	0.42	0.09	0.16	-
62	1845	植酮 fitone	MS, RI	5.08	5.73	7.35	0.77	1.30	0.43
63	1910	法尼基丙酮 farnesyl acetone	MS, RI	-	0.76	1.13	-	-	-
64	1926	棕榈酸甲酯 methyl palmitate	MS, RI	1.23	0.93	1.06	0.67	2.20	0.87
65	1957	邻苯二甲酸二异丁酯 diisobutyl phthalate	MS	0.24	0.20	0.29	0.78	2.84	0.32
66	1968	棕榈酸 palmitic acid	MS, RI	1.84	1.18	2.32	2.50	5.00	1.74
67	1977	异植醇 isophytol	MS, RI	0.35	0.23	0.50	-	-	-
68	1992	十六酸乙酯 palmitic acid ethyl ester	MS, RI	0.12	0.19	0.34	-	-	-
69	2037	植醇 phytol	MS, RI	0.01	0.05	-	-	-	-
70	2091	亚油酸甲酯 methyl linoleate	MS, RI	0.14	0.12	0.22	0.15	0.66	0.25

注: MS: 通过 MS 检测器结合 NIST 08s 质谱库检索鉴定; RI: 实际测得保留指数与文献保留指数对比鉴定; STD: 标准品鉴定; -: 不存在或未检出。

干茶中的 70 种挥发性物质包括 6 种甲氧基苯类(18.76%)、10 种酮类(14.04%)、4 种内酯类(13.59%)、13 种醇类(13.42%)、9 种酸类(13.40%)、11 种碳氢类(11.77%)、8 种酯类(9.33%)、8 种醛类(5.35%)、1 种醚类(0.35%)物质。平均相对含量排名前 10 的组分是二氢猕猴桃内酯(11.43%)、1,2,3-三甲氧基苯(9.83%)、植酮(6.05%)、1,2,4-三甲氧基苯(4.90%)、乙酸丁酯(4.38%)、十四烷(3.63%)、

芳樟醇氧化物 II(3.26%)、异辛酸(3.09%)、壬酸(2.42%)和十五烷(2.36%)，占总量的 51.35%。

茶汤中的 45 种挥发性物质包括 6 种甲氧基苯类(27.08%)、6 种酮类(4.59%)、3 种内酯类(24.91%)、9 种醇类(18.56%)、5 种酸类(5.18%)、5 种碳氢类(8.70%)、6 种酯类(6.37%)、5 种醛类(4.63%)物质。平均相对含量排名前 10 的组分是二氢猕猴桃内酯(24.61%)、1,2,3-三甲氧基苯

(18.82%)、芳樟醇氧化物 II(5.43%)、十四烷(5.08%)、1,2,4-三甲氧基苯(4.98%)、芳樟醇氧化物 I(4.11%)、己醛(3.66%)、棕榈酸(3.08%)、2,4-二甲基-1-庚烯(2.44%)和 α -松油醇(2.39%), 占总量的 74.60%。

Y06、Y09 和 Y10 这 3 种不同年份普洱茶干茶中甲氧基苯类物质的相对含量分别为 27.80%、14.70%和 13.77%, 2006 年茶样的甲氧基苯含量显著高于 2009 年和 2010 年。茶汤中也呈现相同趋势, T06、T09 和 T10 中甲氧基苯类物质的相对含量分别为 41.66%、21.50%和 18.09%。在干茶和茶汤中都发现, 2006 年茶样所含的 1,2,3-三甲氧基苯显著高于 2009 年和 2010 年。

无论干茶还是茶汤, 甲氧基苯类化合物都是普洱茶中含量最丰富的物质, 这与 Lv 等^[20,21]通过 HS-SPME 法提取普洱茶挥发性成分得到的结果一致。一般认为普洱茶独特的陈香品质是在渥堆过程中形成的。渥堆发酵时, 湿热作用和微生物的酶促作用会使叶中内含物质发生复杂变化。研究指出, 茶叶中的没食子酸通过微生物的作用发生甲基化反应, 形成了甲氧基苯及其结构类似的化合物^[22]。有文献证实, 在绿茶、红茶、乌龙茶、白茶中, 甲氧基苯类化合物含量极低, 但在普洱茶中含量十分丰富^[6,20], 且甲氧基苯类物质大多呈现典型的陈香霉味^[5,23], 因此很可能是普洱茶的特征性香气成分。

3.2 普洱茶干茶与茶汤挥发性成分比较

将干茶和热水冲泡后茶汤的挥发性物质按不同类别化合物进行比较, 可以发现: 干茶中共检测出 11 种碳氢类物质, 茶汤中只有 5 种, 长叶烯、(-)- α -柏木烯、(-)-柠檬烯和(+)- β -柏木烯 4 种烯类都没在茶汤中检测到。干茶中共发现 13 种醇类物质, 茶汤中共有 9 种醇, 相对含量前 3 位的醇类都是芳樟醇氧化物 II、芳樟醇氧化物 I 和 α -松油醇, 在干茶中的相对含量分别为 3.26%、1.89%、1.65%, 茶汤中为 5.43%、4.11%、2.39%。Du 等^[24]通过 HS-SPME 和 SDE 提取普洱茶, 也发现了含量较高的 α -松油醇和芳樟醇氧化物, 呈现出花香、木香。干茶中共检测出 9 种酸类物质, 茶汤中发现其中 5 种, 没有检测出干茶中含量较低的异戊酸、庚酸、2-甲基丁酸和戊酸。干茶中共鉴定出 10 种酮类物质, 含量最丰富的是植酮、 β -紫罗酮和香叶基丙酮, 其相对含量分别为 6.05%、2.15%和 1.88%; 茶汤中共鉴定出 6 种酮, 鸢尾酮、植酮和 β -紫罗酮的含量较高, 其在茶汤中的相对含量分别为 1.28%、1.21%和 0.83%。干茶中发现 8 种醛类物质, 茶汤中只含其中 5 种, 没有检测出苯甲醛、辛醛和十二醛。茶叶分析出 4 种内酯, 茶汤中含有除 γ -丁内酯的其他 3 种, 二氢猕猴桃内酯是相对含量最高的挥发性物质, 在干茶中的相对含量为 11.43%, 在茶汤中高达 24.61%。干茶和茶汤中都鉴定出 6 种甲氧基苯化合物, 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯的含量最为丰富, 分别占干茶的 9.83%和 4.90%, 占茶汤的 18.82%和

4.98%。干茶中还含 1 种醚类物质苯基正丁基醚, 茶汤中没有检测到。

在干茶中检测到 70 种成分, 茶汤含 45 种, 茶汤中的挥发性物质明显少于干茶, Schuh 等^[18]、赵菁^[25]以及薛蕾等^[26]的研究也证实冲泡后茶汤挥发性成分减少。一般而言, 由于茶叶加工中高温干燥钝化酶活, 热水冲泡只会影响提取效率而不会生成更多的香气物质。冲泡的温度与时间是影响最终提取效率的重要因素, 研究表明用 20 °C 水对红茶提取 900 s 远低于 95 °C 水提取 150 s^[18]得到的芳樟醇和香叶醇含量。但即使用沸水提取 180 s 也可能出现提取不充分的情况, 赵菁^[25]在冲泡后的叶底里检测到了香气成分。同时热水冲泡可能使含量低的易挥发物质迅速散失于空气中而损失。在本研究操作过程中, 茶汤置于密闭锥形瓶, 冰浴冷却, 且尽可能缩短转移时间, 以最大限度减少香气损失。

虽然茶汤含有的所有成分都在干茶中都被检测出, 但是仍有 7 种物质(己醛、庚醛、2,2,6-三甲基环庚烷、异佛尔酮、 α -松油醇、3,4,5-三甲氧基甲苯、鸢尾酮)在某些年份样品的茶汤中被检出, 而干茶里没有。这可能是某些未知的香气前体物质因为水解反应而释放, 也可能存在二氯甲烷提取茶叶粉末不充分的情况。Schuh 等^[18]用 SAFE 结合 GC-MS 分析红茶干茶和茶汤香气成分, 也发现 9 种成分在茶汤中的绝对含量显著高于茶叶, 他们认为一些前体物质在干燥的茶叶中是稳定的, 但在热水作用下可能发生水解, 释放出香气物质。

3.3 甲氧基苯化合物的含量分析

甲氧基苯化合物是构成普洱茶独特陈香的关键物质, 虽然 GC-MS 结果表明茶汤中甲氧基苯的相对含量高于干茶, 但并不能代表茶汤中甲氧基苯化合物的绝对含量更高, 因此, 本研究用外标法准确定量了普洱茶中具有典型陈香霉味且含量较高的 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯。每个样品重复提取 3 次, 取平均值为最终结果, 以 1:50 的茶水比(1 g 茶叶冲泡 50 mL 茶汤)计算茶汤中 2 种甲氧基苯化合物含量, 结果见表 2。

3 种不同年份茶样冲泡后, 茶汤中 2 种甲氧基苯化合物含量都明显低于干茶, 测得干茶中 1,2,3-三甲氧基苯平均含量为 7.78 $\mu\text{g/g}$, 1,2,4-三甲氧基苯平均含量为 5.37 $\mu\text{g/g}$, 茶汤中二者的平均含量分别为 3.45 $\mu\text{g/g}$ 和 2.73 $\mu\text{g/g}$ 。普遍认为, 甲氧基苯类物质是发酵过程中, 通过微生物的作用发生甲基化反应而生成的, 热水冲泡只会影响提取效率而不会生成更多甲氧基苯。茶汤中 2 种甲氧基苯化合物含量低于干茶, 说明热水单次冲泡 3 min 可能不能完全提取挥发性甲氧基苯化合物。

Gu 等^[6]采用 SDE 提取普洱茶挥发性成分, 用癸酸乙酯作内标对其中的甲氧基苯化合物进行了定量分析; Du 等^[7]利用 HS-SPME 提取普洱茶香气组分, 以甲氧基苯标准

表 2 2 种甲氧基苯化合物含量分析结果($n=3$)
Table 2 Analysis results of the content of 2 methoxyphenolic compounds ($n=3$)

化合物	线性方程	相关系数(r^2)	含量($\mu\text{g/g}$)							
			Y06	Y09	Y10	YP	T06	T09	T10	TP
1,2,3-三甲氧基苯	$Y=56.104X+0.17$	0.9994	13.46	4.09	5.80	7.78	4.38	2.37	3.61	3.45
1,2,4-三甲氧基苯	$Y=52.239X+0.0175$	0.9951	6.26	4.16	5.68	5.37	1.92	2.58	3.69	2.73

注: YP 为干茶中含量的平均值; TP 为茶汤中含量的平均值。

物作内标, 建立标准曲线测定含量。本实验是第一次将 SAFE 运用于普洱茶挥发性物质的提取, 通过外标法准确测定 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯含量。

4 结 论

本研究采用 SAFE 结合 GC-MS 对 3 个不同年份的普洱茶和热水冲泡后茶汤的挥发性物质进行分析, 通过 GC 结合峰面积外标法测定 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯的含量。在普洱茶中共鉴定出 70 种挥发性物质, 包括甲氧基苯类、酮类、内酯类、醇类、酸类、碳氢类、酯类、醛类和醚类, 其中甲氧基苯类物质含量最高。干茶鉴定出 70 种物质, 主要成分有二氢猕猴桃内酯、1,2,3-三甲氧基苯、植酮、1,2,4-三甲氧基苯、丁酸丁酯等, 测得 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯的平均含量分别为 7.78 $\mu\text{g/g}$ 和 5.37 $\mu\text{g/g}$; 茶汤鉴定出 45 种物质, 主要成分有二氢猕猴桃内酯、1,2,3-三甲氧基苯、芳樟醇氧化物 II、十四烷、1,2,4-三甲氧基苯等, 测得 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯的平均含量分别为 3.45 $\mu\text{g/g}$ 和 2.73 $\mu\text{g/g}$ 。冲泡后茶汤的挥发性物质种类减少, 1,2,3-三甲氧基苯和 1,2,4-三甲氧基苯的绝对含量也有所降低。通常, 热水冲泡只会影响香气成分的提取效率而不会生成新的物质。甲氧基苯类化合物是通过微生物的作用, 发生甲基化反应而生成的, 热水冲泡不会促使生成新的甲氧基苯, 反而由于单次冲泡提取不充分, 很可能在茶汤中含量更低。本研究对干茶和茶汤香气成分进行了初步比较和分析, 未来还需进一步探究热水冲泡使香气物质变化的机理。

参考文献

- [1] 吕海鹏, 钟秋生, 林智. 陈香普洱茶的香气成分研究[J]. 茶叶科学, 2009, 29(3): 219-224.
Lv HP, Zhong QS, Lin Z. Study on the aroma components in Pu-erh tea with stale flavor [J]. Tea Sci, 2009, 29(3): 219-224.
- [2] Lian M, Jiang YF, Lv SD, *et al.* The effect of instant Pu-erh tea intragastric administration in mice with hydrogenated oil diet-induced obesity [J]. J Chem Pharm Res, 2014, 6(6): 2025-2030.
- [3] Zeng L, Yan JN, Luo Y, *et al.* Effects of Pu-erh tea aqueous extract (PTAE) on blood lipid metabolism enzymes [J]. Food Funct, 2015, 6(6): 2008-2016.
- [4] Cao ZH, Gu DH, Lin QY, *et al.* Effect of Pu-erh tea on body fat and lipid profiles in rats with diet-induced obesity [J]. Phytother Res, 2011, 25(2): 234-238.
- [5] Xu YQ, Wang C, Li CW, *et al.* Characterization of aroma-active compounds of Pu-erh tea by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and simultaneous distillation-extraction (SDE) coupled with GC-olfactometry and GC-MS [J]. Food Anal Methods, 2016, 9(5): 1-11.
- [6] Gu XG, Zhang ZZ, Wan XC, *et al.* Simultaneous distillation extraction of some volatile flavor components from Pu-erh tea samples comparison with steam distillation-liquid/liquid extraction and soxhlet extraction [J]. Int J Anal Chem, 2009, 2009(1687-8760): 276-713.
- [7] Du LP, Wang C, Li JX, *et al.* Optimization of headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for detecting methoxyphenolic compounds in Pu-erh tea [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(3): 561-568.
- [8] 曹艳妮, 刘通讯. 普洱生茶和熟茶香气中萜烯类和甲氧基苯类成分分析[J]. 食品工业科技, 2012, 33(5): 128-130.
Cao YN, Liu TX. Analysis of terpenes and methoxybenzene components in aroma composition of pu-erh raw tea and ripe tea [J]. Food Sci Technol, 2012, 33(5): 128-130.
- [9] 李瑞利. 普洱茶活性香气化合物研究[D]. 重庆: 西南大学, 2012.
Li RL. Study on active aroma compounds in Pu-erh tea [D]. Chongqing: Southwest University, 2012.
- [10] Yang ZY, Baldermann S, Watanabe N. Recent studies of the volatile compounds in tea [J]. Food Res Int, 2013, 53(2): 585-599.
- [11] 徐刚, 史茗歌, 吴明红, 等. 固相微萃取的原理及应用[J]. 上海大学学报(自然科学版), 2013, 19(4): 368-373.
Xu G, Shi MG, Wu MH, *et al.* Principle and application of solid phase micro-extraction [J]. J Shanghai Univ (Nat Sci Ed), 2013, 19(4): 368-373.
- [12] 刘南南, 郑福平, 张玉玉, 等. SAFE-GC-MS 分析酸牛奶挥发性成分[J]. 食品科学, 2014, 35(22): 150-153.
Liu NN, Zheng FP, Zhang YY, *et al.* Analysis of volatiles in yogurt by solvent-assisted flavor evaporation and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Sci, 2014, 35(22): 150-153.
- [13] Engel W. Solvent assisted flavor evaporation - a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices [J]. Eur Food Res Technol, 1999, 209(3): 237-241.
- [14] Li N, Sun BG, Zheng FP, *et al.* Identification of volatile components in yak butter using SAFE, SDE and HS-SPME-GC/MS [J]. Nat Prod Res, 2012, 26(8): 778-784.
- [15] 苏柯冉, 刘野, 何聪聪, 等. 三种萃取方法结合 GC-O-MS 分析香糟卤中挥发性香气成分[J]. 现代食品科技, 2015, 8: 340-347.
Su KR, Liu Y, He CC, *et al.* Comparative analysis of volatile aroma components of xiangzaolu via the combination of three extraction methods

- and gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry (GC-O-MS) [J]. *Modern Food Sci Technol*, 2015, 8: 340–347.
- [16] Majcher M, Jeleń HH. Comparison of suitability of SPME, SAFE and SDE methods for isolation of flavor compounds from extruded potato snacks [J]. *J Food Compos Anal*, 2009, 22(6): 606–612.
- [17] Kumazawa K, Wada Y, Masuda H. Characterization of epoxydecenal isomers as potent odorants in black tea (*d imbula*) infusion [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(13): 4795–4801.
- [18] Schuh C, Schieberle P. Characterization of the key aroma compounds in the beverage prepared from Darjeeling black tea: quantitative differences between tea leaves and infusion [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(3): 916–924.
- [19] Mizukami Y, Yamaguchi Y. Method for the analysis of tea aroma by using solvent-assisted flavor evaporation apparatus [J]. *Chagyō Kenkyū Hokoku (Tea Res J)*, 2010, 2010(110): 105–112.
- [20] Lv HP, Zhong QS, Lin Z, *et al.* Aroma characterisation of Pu-erh tea using headspace-solid phase microextraction combined with GC/MS and GC-olfactometry [J]. *Food Chem*, 2012, 130(4): 1074–1081.
- [21] Lv SD, Wu YS, Wei JF, *et al.* Application of gas chromatography-mass spectrometry and chemometrics methods for assessing volatile profiles of Pu-erh tea with different processing methods and ageing years [J]. *Rsc Adv*, 2015, 5(107): 87806–87817.
- [22] Kawakami M, Kobayashi A, Yamanishi T, *et al.* Flavor constituents of microbial-fermented teas Chinese-Zhuna-cha and Koku-cha [J]. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 1987, 61(4): 457–465.
- [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]. *Food Sci*, 2014, 35(11): 292–298.
- [24] Du LP, Li JX, Li W, *et al.* Characterization of volatile compounds of Pu-erh tea using solid-phase microextraction and simultaneous distillation-extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Res Int*, 2014, 57(1): 61–70.
- [25] 赵菁. 绿茶特征香气成分及与品质关系的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2002.
- Zhao J. Study on the relationship between aroma components and quality of green tea [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2002.
- [26] 薛蕾, 王道平, 宋培浪, 等. SPME-GC-MS 对一种红茶前后期香气成分变化分析[J]. *安徽农业科学*, 2013, 34(41): 13380–13382.
- Xue L, Wang DP, Song PL, *et al.* Analysis on the change of the aroma components of a black tea before brewing with SPME-GC-MS [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2013, 34(41): 13380–13382.

(责任编辑: 霍安琪)

作者简介



李季, 硕士研究生, 主要研究方向为茶叶加工。

E-mail: 594076557@qq.com



童华荣, 博士, 教授, 主要研究方向为茶学与感官科学。

E-mail: huart@swu.edu.cn