

# SPME-GC/MS 法测定红茶及红茶粉中的挥发性

范远景<sup>1</sup>, 王林<sup>1</sup>, 董万领<sup>1</sup>, 张东吟<sup>1</sup>, 谢玄<sup>1</sup>, 范增涛<sup>1</sup>, 张平<sup>2</sup>, 郭秀秀<sup>2</sup>

(1. 合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽合肥 230009)

(2. 安徽省祁门“黄山药谷”生物科技有限公司, 安徽黄山 245600)

**摘要:** 本文采用固相微萃取 (SPME) 提取祁门红茶和红茶粉中主要的香气成分, 用气相色谱-质谱联用技术 (GC-MS) 对这些香气成分进行了分析, 通过香气成分的分析对比找出红茶加工成茶粉的过程中所丢失的特征香气成分。结果表明: 红茶经过加工到红茶粉后, 其中主要的醇、醛、酯类物质大量减少, 当样品量为 1 g、萃取温度 80 °C、萃取时间 30 min 时得到萃取结果最优。祁门红茶香气成份中共检测到醇、醛、酮、酯、酸类物质, 主要特征性香气成份为反式-2-己烯醛, 苯甲醇, 芳樟醇, 芳樟醇氧化物, 2-亚硝基甲苯, 水杨酸甲酯, 香叶醇,  $\beta$ -紫罗兰酮, 二氢猕猴桃内酯, 苯甲酸苄酯等, 在红茶粉香气物质中占绝大部分成份, 香叶醇是代表祁门香的主要物质, 构成其特殊的风味。

**关键词:** 固相微萃取; 气相色谱-质谱法; 挥发性成分; 红茶

文章编号: 1673-9078(2012)9-1231-1235

## Determination of Volatile in Tea and Tea Powder by SPME-GC / MS

FAN Yuan-jing<sup>1</sup>, WANG lin<sup>1</sup>, DONG Wan-ling<sup>1</sup>, ZHANG Dong-yin<sup>1</sup>

XIE Xuan<sup>1</sup>, FAN Zeng-tao<sup>1</sup>, ZHANG Ping<sup>2</sup>, GUO Xiu-xiu<sup>2</sup>

(1. School of biological and food engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

(2. Anhui Qimen Huangshan herbs valley bio-technology Co., Ltd, Huangshan 245600, China)

**Abstract:** In this paper, the main aroma components of qimen black tea and black tea powder was extracted by solid phase micro-extraction (SPME) and analyzed by gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS). The characteristic aroma components lost in the process of black tea processing into powder was identified through analysis and comparison of aroma components. The results showed that the main substances of alcohols, aldehydes and esters decreased significantly in the process of black tea processing to black tea powder, the extraction results was the best when sample volume was 1 g, extraction temperature was 83 °C and extraction time was 30 min. The fragrance ingredients were tested in Qimen Black Tea, such as Alcohol, aldehyde, ester and acid substances. The main characteristics of the fragrance ingredients were Trans-2-Hexenal, Benzyl Alcohol, Linalool oxide, 2-Asia-nitro-to-luene, Methyl Salicylate, Geraniol, Beta-Ionone, 9-oxa-1,5,5-trimethyl-double loop [4,3,0] hydrogen azelate -6-effects of vinyl-8-ketone, Benzyl Benzoate, etc. These ingredients make up the vast majority in Aroma Components of Black Tea. The aroma of Bleak Tea was constituted by the main ingredient Geraniol.

**Key words:** solid phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry; volatile components; black tea

祁门红茶 (简称祁红), 是世界著名的三大红茶之一, 也是我国传统红茶之一, 有百余年的生产历史。主要生产于安徽省祁门县, 以及周边的池州、东至、石台等县也有少量生产。祁门红茶品质优异, 清香持久的香气, 比其他红茶更具有竞争力, 享誉国内外的市场, 与印度大吉岭红茶、斯里兰卡的乌伐红茶并称世界三大高香红茶。一般茶叶中芳香物质占干物质的万分之二左右, 在红茶中占万分之一到三左右<sup>[1]</sup>, 红茶不仅具有水果香气、醇厚滋味, 而且含有天然红色素, 其品性温和, 味道醇厚<sup>[2]</sup>, 红茶中的芳香物质含

收稿日期: 2012-05-03

作者简介: 范远景 (1958-), 男, 博士, 教授, 食品营养与卫生、食物性功能成分抗突变/抗癌机理、天然功能性成分加工

量虽然很少, 但其种类较多, 目前发现而且鉴定的香气成分大概有三百多种, 主要为醇、醛、酯、酸、酮和含氮、氧的杂环化合物<sup>[3-4]</sup>, 形成了祁门红茶特有的“祁门香”。

速溶红茶粉是以成品红茶为原料, 利用水作为溶剂萃取红茶叶中的有效成份, 利用膜技术、经喷雾干燥、高速离心设备, 经过提取、浓缩、喷雾干燥等工序加工而形成的一种粉末状或小颗粒状的新型产品。据国内外近几年来研究表明, 速溶红茶粉因其具有抗氧化、防止衰老、抗癌、降压、降脂、减少血糖含量等许多功效, 成为全球消费者最受喜爱的饮品<sup>[5-6]</sup>。速溶茶粉在加工过程中香气成分损失比较严重, 而降低茶粉的价值和品质。对于红茶香气成分的提取方法主

要的有同时蒸馏萃取、超临界萃取、顶空固相微萃取等几种方法<sup>[1]</sup>,自1989年首次出现固相微萃取(SPME)的报道后,由于SPME本身具有制备简单、使用快速等优点迅速发展起来,在食品质量控制、环境领域得到很好的应用,但在天然产物提取领域还不是很成熟<sup>[8-9]</sup>。利用气相色谱-质谱联用方法对红茶及茶粉香气成分进行分析,找出加工过程中损失的特征香气成分,提高红茶茶粉的品质进而增加其使用价值和经济价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

红茶茶类样品:祁门红茶样品(经专业茶叶审评师感官审评,评定具有相应茶类的品质特征);祁门红茶茶粉(同一批次的茶叶加工而成的)。

### 1.2 实验主要仪器和设备

手动SPME进样器,美国Supelco公司;75 μm CAR/PDMS萃取头、65 μm DVB/PDMS萃取头、100 μm PDMS萃取头,美国Supelco公司;10 mL螺口样品瓶,美国Supelco公司;数显恒温水浴锅,江苏省金坛市正基仪器有限公司;气相色谱-质谱联用仪,日本岛津公司;气质专用色谱柱,Agilent公司;电热鼓风干燥箱,中仪国科科技有限公司;电子天平,移液枪。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 气相色谱-质谱仪(GC-MS)参数条件

##### 1.3.1.1 色谱条件

色谱柱采用DB-5MS石英毛细管色谱柱(30×0.32 mm×1 μm);升温程序:起始柱温50℃,保持5 min,以5℃/min上升至60℃;再以10℃/min上升至240℃,保持5 min。载气He,流速2 mL/min;恒压84.6 kPa,不分流。

##### 1.3.1.2 质谱条件

离子源:EI源;离子源温度200℃;电子轰击能量70 eV;连接口温度:250℃;质量扫描范围40~350 amu。

##### 1.3.2 固相微萃取条件

萃取头老化:温度250℃,时间30 min。

萃取条件:温度60℃/80℃,萃取时间30 min,解析时间2 min。

### 1.4 样品前处理

(1)将水浴锅加热至60℃后,然后将烧杯放入水浴锅中,在烧杯中放入蒸馏水待其温度恒定后,向其内加入无水氯化钠至溶液饱和,待用。

(2)称取红茶、茶粉样品于SPME专用采样瓶中,加入2 mL饱和氯化钠溶液,将采样瓶放入水浴锅中。

(3)60℃条件下将75 μm Caboxen / PDMS纤维萃取头(使用之前,先在250℃进样口的气相色谱老化30 min)插入采样瓶中顶空萃取30 min,拔出萃取头,立即插入250℃进样口中脱附2 min,进行GC-MS分析

### 1.5 红茶、茶粉的处理及特征香气的检测

按照上述气相色谱-质谱条件对各样品进行分析,由化学工作站给出各样品特征香气的总离子流图。总离子流图中各峰经质谱扫描后所得的质谱图,用计算机进行质谱数据库检索,人工谱图解析,按各峰的质谱裂片与文献核对,查对有关质谱资料,对基峰、质核比和相对丰度等方面进行比较,分别对各峰加以确认,并且按照保留时间和其他可靠的质谱标准进行最后鉴定。各样品特征香气中的各化学成分及相对质量分数可制成表格形式。

(1)将水浴锅加热至60℃后,然后将烧杯放入水浴锅中在烧杯中放入蒸馏水待其温度恒定后向其内加入无水氯化钠至溶液饱和,待用。

(2)称取红茶、茶粉1 g各放入SPME专用采样瓶中,然后加入2 mL饱和氯化钠溶液,将采样瓶放入60℃水浴锅中。

(3)60℃条件下将75 μm Carboxen / PDMS纤维萃取头(使用之前,先在250℃进样口的气相色谱老化30 min)插入采样瓶中顶空萃取30 min,拔出萃取头,立即插入250℃进样口中脱附2 min,进行GC-MS分析

(4)萃取量条件不变下,萃取时间改为40 min,50 min,水浴锅温度调至70℃,80℃相互重复上述实验。

萃取量条件改变时,萃取时间改为40 min,50 min,水浴锅温度调至70℃,80℃相互重复上述实验。

## 2 结果与讨论

### 2.1 萃取条件的优化

#### 2.1.1 萃取头对总峰面积的影响

萃取头是在一根石英纤维上涂上固相微萃取涂层,不同的涂层中含有不同色谱固定相或吸附剂,我们在实验时要根据我们的物质来选择合适的萃取头是非常重要的,一定要使你的样品基质与涂层的融合度达到最大为最好。把1 g红茶粉样品装入顶空瓶中,放入80℃温度下水浴锅内,分别选择65 μm CAR/PDMS萃取头、75 μm CAR/PDMS萃取头、PDMS-DVB萃取头萃取30 min后,进行气质联用仪器的检测,检测出挥发性化合物种类峰面积的多少来确定萃取头。

由图1可知,75 μm CAR/PDMS萃取头萃取得到的总峰面积远远大于PDMS/DVB萃取头和65 μm

CAR/PDMS 萃取头, 并且检测出的风味物质种类也远大于另外二种, 萃取效果较好, 故萃取头类型选择 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS。

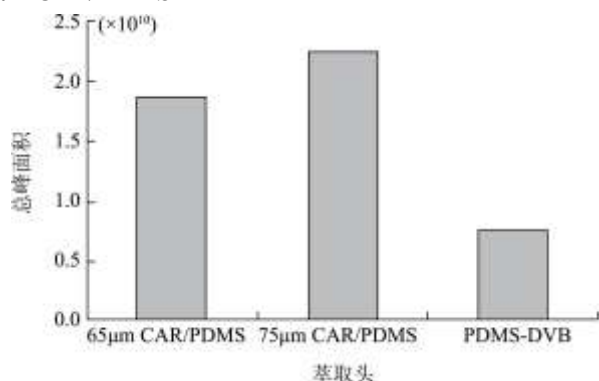


图 1 萃取头对总峰面积的影响

Fig.1 Effects of fibers on total peak area

2.1.2 萃取量对总峰面积的影响

10 mL 的顶空瓶体积固定, 红茶香气萃取量的多少对挥发性成分的影响较大, 如果萃取的香气成分量少, 则不易测出其里面的主要挥发性成分, 过多的量气体之间相互碰撞, 不易挥发出来, 选用 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS 萃取头, 先固定萃取时间为 30 min, 萃取温度为 40  $^{\circ}\text{C}$ , 解吸时间为 2 min, 红茶粉添加量分别为 0.5 g、1 g、1.5 g、2 g, 经过气质检测, 根据总峰的面积变化, 确定最优方案。结果如图 2 所示。

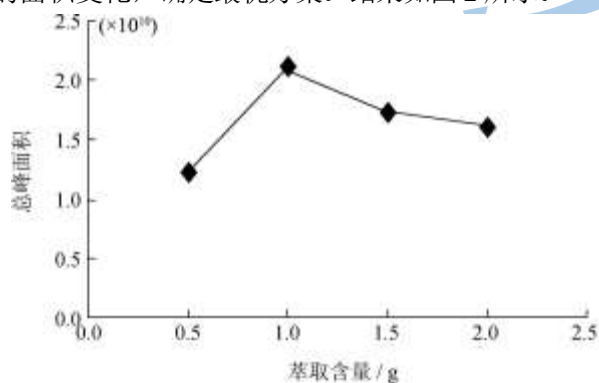


图 2 萃取量对总峰面积的影响

Fig.2 Effects of addition of duck meat on total peak area

由图 2 可知, 挥发性风味物质总峰面积开始随着红茶萃取量的增加而增大, 当萃取量达到 1 g 时, 其峰面积达到最大, 最后慢慢缓缓下落, 表明 1 g 红茶茶粉为最佳添加量。

2.1.3 萃取时间对总峰面积的影响

所需萃取时间的长短, 主要取决于萃取头涂成吸附的量与顶空瓶中被分析物质的平衡关系, 选择 1 g 红茶粉, 其他质谱条件不变, 萃取时间分别为 20 min、30 min、40 min、50 min, 研究得出总峰面积的影响。如果如图 3 所示

由图 3 可知, 开始时随着时间的升高, 得出物质

的总峰面积是慢慢变大的, 而且速度还比较快, 当达到 30 min 时, 总面积达到最大, 之后就缓慢下降, 说明温度对萃取总峰面积有一定的影响。

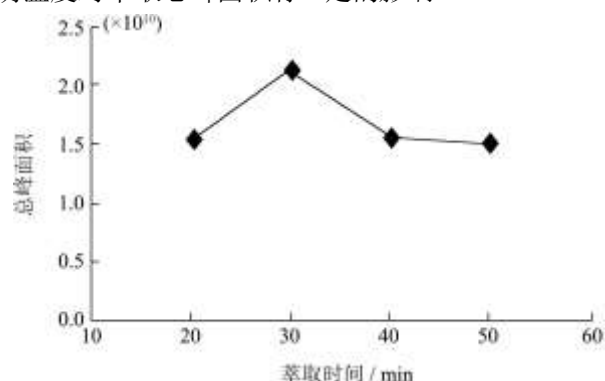


图 3 萃取时间对总峰面积的影响

Fig.3 Effects of extraction time on total peak area

2.1.4 温度对总峰面积的影响

萃取温度对固相微萃取法萃取物质有 2 重方面的影响: 一方面, 温度升高时, 顶空瓶中液体反应速度加快, 分析速度也加快, 但是另一方面, 随着温度的升高, 萃取头涂成吸附的物质吸附量降低, 主要是因为它和分析物的分配系数减少了, 从而影响固相微萃取的灵敏度。选择 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS 萃取头, 固定萃取量为 1 g, 萃取时间为 30 min, 解析时间为 2 min, 萃取温度设定为 60  $^{\circ}\text{C}$ 、70  $^{\circ}\text{C}$ 、80  $^{\circ}\text{C}$ 、90  $^{\circ}\text{C}$ , 研究萃取温度对总峰面积的影响。结果如图 4 所示。

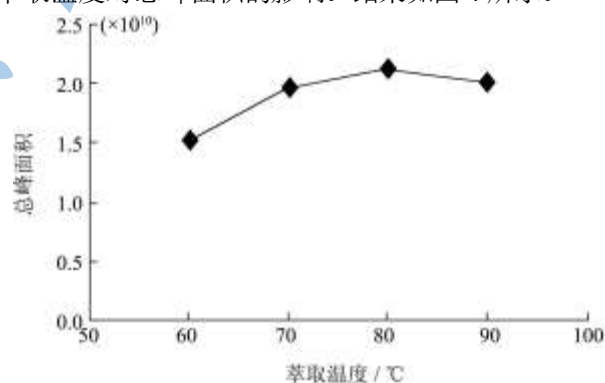


图 4 萃取温度对总峰面积的影响

Fig.4 Effects of extraction temperature on total peak area

由图 4 可知, 温度达到 80  $^{\circ}\text{C}$  时总峰面积最大, 然后开始缓缓下降。

实验结果表明: 红茶经过加工到红茶粉后, 其中主要的醇、醛、酯类物质大量减少, 当样品量为 1 g、萃取温度 80  $^{\circ}\text{C}$ 、萃取时间 30 min 时得到萃取结果最优。

2.1.5 正交试验结果与分析

在单因素实验基础上, 选用  $L_9(3^3)$  正交表进行实验, 所采用的因素和水平见表 1, 结果见表 2。

表 1 正交试验因素与水平设计

**Table 1 The factors and the levels**

水平	A (萃取量/g)	B (萃取时间/min)	C (萃取温度/°C)
1	0.5	20	70
2	1	30	80
3	1.5	40	90

表 2 正交试验结果与分析

**Table 2 Result and analysis of orthogonal test**

试验号	A	B	C	总峰面积(10 <sup>7</sup> )
1	1	1	1	1.537
2	1	2	2	2.012
3	1	3	3	1.824
4	2	1	2	2.208
5	2	2	3	1.808
6	2	3	1	1.755
7	3	1	3	1.894
8	3	2	1	1.924
9	3	3	2	1.852
k <sub>1</sub>	5.373	5.639	5.216	
k <sub>2</sub>	5.771	5.744	6.072	
k <sub>3</sub>	5.67	5.431	5.526	
极差(R)	0.398	0.313	0.856	
因素主次	CAB			
最优条件	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>			

由表 2 可以看出本实验各因素组合中的最优组合为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>，而通过 R 值的大小可以看出本实验因素存在显著性顺序，其主次关系为 C>A>B。即萃取时间>萃取量>萃取温度。实验的最佳条件是即萃取量 1 g，萃取温度 80 °C、萃取时间 30 min。从表 3 可以看出，最优组合条件在 9 次实验中没有出现，其中 9 次实验

表 4 茶、茶粉中各主要成分峰面积百分含量

**Table 4 Percentage of peak area of the main ingredients in tea, tea powder**

名称	反式-2 己烯醛/%	苯甲醇/%	芳樟醇氧化物/%	芳樟醇/%	2-亚硝基甲苯/%	水杨酸甲酯/%	香叶醇/%	β-紫罗兰酮/%	二氢猕猴桃内酯/%	苯甲酸苄酯/%
t/min	10.903	14.998	15.406	15.757	16.223	17.657	18.257	21.853	22.989	26.819
红茶	5.24	2.47	5.83	5.21	1.27	2.19	18.36	1.16	0.98	1.34
红茶粉		1.86	4.67	1.26	0.94	1.74	4.8	0.72	0.86	1.03

从红茶和红茶粉的离子图分析得出，祁门红茶中可以分离出 110 多种香气成分，大概 40 多种主要物质成分已得到鉴定，占总量的 90%，主要为醇、醛、酯、酸、酮和含氮、氧的杂环化合物。上表中根据气相色谱图分析出其中几种含量比较高的物质成分，其中反式-2 己烯醛、苯甲醇、芳樟醇、芳樟醇氧化物、2-亚硝基甲苯、水杨酸甲酯、香叶醇、β-紫罗兰酮、二氢猕猴桃内酯、苯甲酸苄酯等成分含量较高，是构成祁

门红茶香气的主要成分，是祁门红茶“祁门香”的特征香气成分。从表可以看出，红茶在加工到红茶粉过程中，这几种主要香气成分的含量都有明显的下降，说明加工过程中香气大量丢失，其中香叶醇是构成“祁门香”的主要物质<sup>[10]</sup>，其结构式见图 7。

2.2 红茶及红茶粉的成分化合物分析

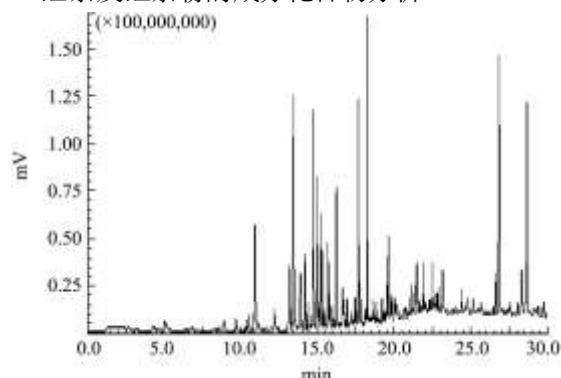


图 5 红茶叶中挥发性风味物质的总离子流图

Fig.5 Totalion chromatogram of volatile flavor compounds in black tea

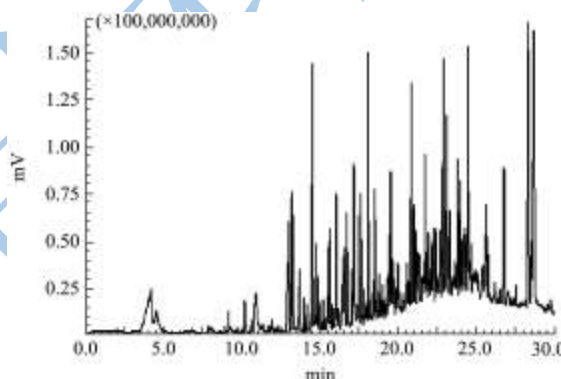


图 6 红茶粉中挥发性风味物质的总离子流图

Fig.6 Totalion chromatogram of volatile flavor compounds in black tea powder

门红茶香气的主要成分，是祁门红茶“祁门香”的特征香气成分。从表可以看出，红茶在加工到红茶粉过程中，这几种主要香气成分的含量都有明显的下降，说明加工过程中香气大量丢失，其中香叶醇是构成“祁门香”的主要物质<sup>[10]</sup>，其结构式见图 7。

香叶醇又叫反-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醇，也叫牻牛儿醇常温下几乎不溶于水，能溶于乙醇的有机溶剂，具有温和花香的又有苦味的无色液体。香叶醇在自然

界中存在于各种植物精油和红茶中,可用于配置各种日用香精、食品添加剂的材料、食品等。

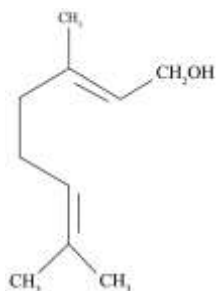


图7 香叶醇的结构式

Fig.7 The structure of geraniol

表中茶粉和茶叶的量是通过前面萃取条件下得到的最优化的量,所选的物质的比例是通过GC-MS分析和相关文献中作对比后得到的。通过分析得到,红茶香气成分主要含有醇、醛、脂、酸、酮、烯烃等,本文主要列举了几个含量成分比较高的,代表他们特征风味的物质。由表分析得到从红茶到红茶粉在加工过程中,香气成分损失比较严重,茶叶占峰面积比较大的几种物质分别是反式-2-己烯醛、苯甲醇、芳樟醇氧化物、芳樟醇、2-亚硝基甲苯、水杨酸甲酯、香叶醇、 $\beta$ -紫罗兰酮、二氢猕猴桃内酯、苯甲酸苄酯等,上表通过茶叶加工到茶粉过程中,这些主要物质损失的峰面积的百分含量。

### 3 结论

3.1 试验中采用固相微萃取法(SPME)对红茶及速溶红茶粉的特征性香气成份分析,结果显示,祁门红茶香气成份中共检测到醇、醛、酮、酯、酸类物质,主要特征性香气成份为反式-2-己烯醛、苯甲醇、芳樟醇氧化物、芳樟醇、2-亚硝基甲苯、水杨酸甲酯、香叶醇、 $\beta$ -紫罗兰酮、二氢猕猴桃内酯、苯甲酸苄酯等,在红茶粉香气物质中占绝大部分成份,香叶醇是代表祁门香的主要物质,构成其特殊的风味。

3.2 实验采用75  $\mu\text{m}$  Carboxen/PDMS混合涂层的萃取头,并在香精中加入饱和盐水。显著降低了溶剂对分析的干扰,同时提高了低极性的挥发性成分的分析灵敏度<sup>[11]</sup>。

3.3 本次实验在样品分析过程中,每种样品图谱中选取了较为突出的30个峰进行分析,它们代表了样品中含量较多的主要特征香气组分,部分含量较为微量的特征香气组分可能无法分析检测出来,可适量增加所

选取的图峰的数量扩大分析范围,这样可以避免一些较为重要而含量较少的特征香气组分的无法检出的弊端。

3.4 通过上述样品中茶叶与茶粉香气组分的对比分析可知在传统红茶加工成茶粉的工艺过程中,许多挥发性香气组分产生损失从而影响了茶粉的品质与使用价值;红茶茶叶在加工成茶粉后,许多香气组分发生了改变,这可能是加工过程中组分因加工条件影响而发生结构改变或在其他杂质物质影响下而产生的杂质类化合物;在对红茶、红茶粉的萃取中,萃取时间、萃取温度、萃取物质的量对峰面积有一定的影响,本文探索的最佳参数是萃取量1g,萃取温度80 $^{\circ}\text{C}$ 、萃取时间30min。

### 参考文献

- [1] 宛晓春主编.茶叶生物化学第三版[M].北京:中国农业出版社,2003
- [2] 董志铭,汤兴福,吴云辉,等.红茶果冻的加工工艺研究[J].现代食品科技,2011,27(11):1367-1371
- [3] 郭雯飞.茶叶香气生成机理的研究[J].中国茶叶加工,1996,4:34-37
- [4] 吕连梅,董尚胜.茶叶香气的研究进展[J].茶叶,2001,28(4):181-184
- [5] Toebes Ah, Verkleij JA, Lingeman H, et al. Extraction of is of lavone malonylg lucosides from *trifolium pretense* L [J]. Agric food chem., 2005,53 (12): 4660-4666
- [6] Chung SH, Ryu D, Kim Ek, et al. Enzyme-assisted extraction of moniliform in form extruded comgrits [J]. J Agric Food Chem., 2005, 53(13): 5074-5078
- [7] 周斌,任洪涛,秦太峰,等.不同提取方法在滇红香气成分分析中的对比研究[J].现代食品科技,2011,27(7):850-855
- [8] 魏宁漪,段天璇,马长华.固相微萃取技术及其在天然产物分析中的应用[J].中国中药杂志,2004,29(3):197
- [9] 贾金平,何翊,黄骏雄.固相微萃取技术与环境样品前处理[J].化学进展,1998,10(1):74
- [10] 周雪芳,唐洪,雷茜.四川工夫红茶香气成分分析[J].西南师范大学学报(自然科学版),2011,36(3):178-181
- [11] 王昊阳,郭寅龙,张正行,等.顶空-固相微萃取-毛细管气相色谱-质谱联用方法快速分析香精中挥发性化学成分[J].分析测试学报,2004,23:9-13