

不同工艺六堡茶中主要物质随陈化时间的变化规律

孟娟¹, 杨立芳², 皮杜娟³, 王芳³, 翁杰², 刘鑫越⁴, 孙海兵³, 刘洪存^{3*}

(1. 广西民族大学预科教育学院, 广西南宁 530008) (2. 广西民族大学化学化工学院, 林产化学与工程国家民委重点实验室, 广西林产化学与工程重点实验室, 广西林产化学与工程协同创新中心, 广西南宁 530008)

(3. 广西民族大学海洋与生物技术学院, 广西多糖材料与改性重点实验室, 广西南宁 530008)

(4. 山东理工大学材料科学与工程学院, 山东淄博 255000)

摘要: 陈化是提升六堡茶风味的一道重要工艺。该研究采用化学分析法和高效液相色谱法, 分析不同陈化年份六堡茶中水浸出物、生物碱类、多酚类和多糖类主要物质的含量变化。结果表明: 传统和现代两种工艺六堡茶在陈化 1~15 年时, 干物质含量变化不显著 ($P>0.05$); 游离氨基酸的含量极显著下降 ($P\leq 0.01$); 黄酮含量逐年降低, 由 16.70 mg/g 和 15.67 mg/g 下降至 7.93 mg/g 和 3.40 mg/g; 多酚含量由 19.93 mg/g 和 15.57 mg/g 下降至 6.13 mg/g 和 4.33 mg/g。陈化 5 年时, 传统工艺和现代工艺六堡茶水浸出物含量达到最高, 分别为 566.37 mg/g 和 500.10 mg/g; 陈化 5~15 年时, 含量下降极显著 ($P\leq 0.01$)。陈化 5 年时, 多糖含量达到最高值: 43.07 mg/g 和 34.80 mg/g; 在陈化 15 年时, 又下降至 17.73 mg/g 和 13.47 mg/g, 含量变化极显著 ($P\leq 0.01$)。两种工艺的六堡茶中各类物质的变化趋势一致; 但是现代工艺中各物质在陈化前期的转化更快; 在陈化 15 年后, 相同物质的含量基本接近。陈化过程中物质的代谢和转化, 对形成六堡茶“红、浓、陈、醇”的独特品质起到关键作用。通过研究六堡茶中主要物质随陈化时间的变化规律, 为六堡茶质量控制和品质评价提供了科学数据。

关键词: 六堡茶; 陈化时间; 物质基础; 变化规律

文章编号: 1673-9078(2024)10-327-337

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.10.1063

Aging Time-dependent Changes in the Concentrations of Key Components of Liubao Tea Produced Using Different Processes

MENG Juan¹, YANG Lifang², PI Dajuan³, WANG Fang³, WENG Jie²,
LIU Xinyue⁴, SUN Haibing³, LIU Hongcun^{3*}

(1. College of Preparatory Education, Guangxi Minzu University, Guangxi 530008, China) (2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Minzu University; Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, State Ethnic Affairs Commission; Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products; Guangxi Collaborative Innovation Center for Chemistry and Engineering of Forest Products, Guangxi

引文格式:

孟娟,杨立芳,皮杜娟,等.不同工艺六堡茶中主要物质随陈化时间的变化规律[J].现代食品科技,2024,40(10):327-337.

MENG Juan, YANG Lifang, PI Dajuan, et al. Aging time-dependent changes in the concentrations of key components of liubao tea produced using different processes [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(10): 327-337.

收稿日期: 2023-09-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81960164); 广西少数民族预科教育基地科研项目 (YJJDA202301); 广西科技重大项目 (AB21196020); 广西少数民族预科教育基地“课程思政”示范课项目 (YJJDD202201); 广西民族大学科研基金资助项目 (2020KJYB005); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目 (2021KY0175); 广西民族大学相思湖青年学者创新团队项目 (2022GXUNXSHQN05)

作者简介: 孟娟 (1991-), 女, 硕士研究生, 讲师, 研究方向: 功能小分子的分析与检测, E-mail: 1134552949@qq.com

通讯作者: 刘洪存 (1990-), 男, 硕士研究生, 工程师, 研究方向: 药用植物和微生物次生代谢产物研究, E-mail: gxunliuhongcun@163.com

530008, China) (3. College of marine sciences and biotechnology, Guangxi Minzu University, Guangxi Key Laboratory of Polysaccharide Materials and Modification, Guangxi 530008, China) (4. School of Materials Science and Engineering, Shandong University of Technology, Zibo 255000, China)

Abstract: Aging is an important process that enhances the flavor of Liubao tea by affecting the concentrations of key components, such as water extracts, alkaloids, polyphenols, and polysaccharides. To clarify the effect of aging on the concentrations of these components, samples of Liubao tea prepared using traditional and modern processes and aged for one, three, five, ten, or fifteen years were tested via chemical analysis and high-performance liquid chromatography (HPLC). The results indicated that from one to fifteen years of aging, the tea samples prepared using either of the processes did not show any significant change ($P>0.05$) with respect to the dry matter content. However, there was a continuous decrease in the flavonoid content (from 16.70 mg/g and 7.93 mg/g in tea samples prepared using the traditional process to 15.67 mg/g and 3.40 mg/g in tea samples prepared using the modern process after one year of aging and fifteen years of aging, respectively). A similar continuous decrease was also observed in the polyphenol content (from 19.93 mg/g and 6.13 mg/g in tea samples prepared using the traditional process to 15.57 mg/g and 4.33 mg/g in tea samples prepared using the modern process after one year of aging and 15 years of aging, respectively). The free amino acid content in the Liubao tea prepared using either of the processes was significantly lower after five years of aging than after one year of aging ($P\leq 0.01$) and significantly lower after fifteen years of aging than after ten years of aging ($P\leq 0.01$). After five years of aging, the water extract content peaked at 566.37 mg/g and 500.10 mg/g in tea samples prepared using the traditional process and modern process, respectively, which was significantly higher than the corresponding values after fifteen years of aging ($P\leq 0.01$). After five years of aging, the polysaccharide content increased to 43.07 mg/g and 34.80 mg/g in tea samples prepared using the traditional process and modern process, respectively, which was significantly higher than the corresponding values (17.73 mg/g and 13.47 mg/g) in tea samples prepared using the traditional process and modern process, respectively, after fifteen years of aging ($P\leq 0.01$). The two types of tea samples exhibited similar trends with respect to the concentrations of the key components. However, the transformation of the different components occurred more rapidly in tea samples prepared using the modern process than in tea samples prepared using the traditional process in the early years of aging. After 15 years of aging, the two types of tea samples had essentially the same key compound contents. The metabolism and transformation of key compounds during aging are responsible for the unique qualities of the Liubao tea, i.e., red color, rich fragrance, smooth taste, and mellow flavor. This study provides scientific data for the quality control and evaluation of Liubao tea by analyzing the aging time-dependent changes in the concentrations of the key compounds in Liubao tea.

Key words: Liubao tea; aging time; substance basis; change rule

六堡茶是广西壮族自治区梧州市的一类特色黑茶, 具有“红、浓、醇、陈”的独特品质, 具有降低血脂、血糖和抗氧化等功能活性^[1,2]。特定的茶树品种、加工工艺和微生物种群等共同奠定了六堡茶重要的化学物质基础, 赋予六堡茶独特的风味品质^[3]和保健功效。六堡茶制作分为传统和现代两种工艺。2018年广西颁布的食品安全地方标准 DBS45057-2018《六堡茶(传统工艺)》中描述传统工艺流程为: 采用杀青、初揉、堆闷、复揉、干燥、筛选、拼配或不拼配、汽蒸或不汽蒸、压制成型或不压制成型、陈化或不陈化, 不经渥堆发酵的工艺。与传统工艺六堡茶相比, 现代工艺采用独特的冷水渥堆发酵技术, 将传统热发酵改为冷发酵, 人工增

加茶叶的含水量, 适当延长渥堆发酵时间, 促使茶汤红浓明亮, 滋味陈醇^[4]。六堡茶是一款后发酵茶, 需陈化一定年份再上市销售。六堡茶在陈化过程中, 受到湿度、温度等环境因素的影响, 在各种微生物^[5-7]和酶^[8]的作用下, 茶叶中的各类化学成分发生变化^[9], 这与六堡茶形成特有的香气、汤色和味道有着密不可分的联系。目前, 结合六堡茶陈化时间, 对传统和现代两种不同工艺六堡茶中主要物质变化规律进行对比分析的研究鲜有报道。

本文综合制作工艺和陈化时间两个因素, 选用传统和现代两种工艺制作的不同陈化年份(1、3、5、10、15年)的六堡茶, 通过对干物质总量、水浸出物、总多酚、总黄酮、总多糖和总游离氨基酸等 6

类成分进行分析,采用 HPLC 图谱对咖啡碱、可可碱、茶碱和儿茶素类等 9 种物质进行定性定量检测,对比两种制作工艺六堡茶中各物质变化的差异,分析六堡茶在陈化过程中主要物质的变化规律,为六堡茶质量评价提供数据基础,丰富六堡茶的基础研究。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

实验六堡茶样品选用同一茶厂生产、同一陈化环境下,分别由传统和现代两种工艺生产的六堡茶,每种工艺的六堡茶选取陈化年份为 1、3、5、10、15 年的茶样,共 10 个样品。样品的生产地和陈化地均在广西梧州。

表 1 样品编号及样品信息

Table 1 Serial number and information of the samples

序号	编号	陈化期	工艺类型
1	XD-1	1 年	现代工艺
2	XD-3	3 年	现代工艺
3	XD-5	5 年	现代工艺
4	XD-10	10 年	现代工艺
5	XD-15	15 年	现代工艺
6	CT-1	1 年	传统工艺
7	CT-3	3 年	传统工艺
8	CT-5	5 年	传统工艺
9	CT-10	10 年	传统工艺
10	CT-15	15 年	传统工艺

甲醇(色谱纯), Knowles; 乙腈(色谱纯), Knowles; 磷酸、氢氧化钠、葡萄糖、无水乙醇、蒽酮、苯酚、盐酸、浓硫酸等试剂均为分析纯(AR, 国药集团); 标准品: L-茶氨酸(L819047, 纯度 $\geq 98\%$), 麦克林; 可可碱(T106805, 纯度 $\geq 99.5\%$), 阿拉丁; 咖啡碱(T343800, 纯度 $\geq 98\%$), 泰普瑞; 茶碱(B20144, 纯度 $\geq 98\%$), 源叶生物; 没食子儿茶素没食子酸酯(B20850, 纯度 $\geq 98\%$), 源叶生物; 没食子酸(B20851, 纯度 $\geq 98\%$), 源叶生物; 表没食子儿茶素(B20105, 纯度 $\geq 98\%$), 源叶生物; 表儿茶素(E808887, 纯度 $\geq 98\%$), 源叶生物; 表没食子儿茶素没食子酸酯(B20106, 纯度 $\geq 98\%$), 源叶生物。

1.2 仪器与设备

L-550 台式低速大容量离心机, 湖南湘仪公

司; Epoch 多功能酶标仪, 美国 Biotek 公司; 1260 InfinityII 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; Micro 21R 高速离心机, 美国 Thermo Fisher 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 6类化学成分分析

参照 GB8303-2013 进行样品前处理; 参照 GBT8304-2013 测定干物质含量; 参照 GB8305-1987 测定茶叶水浸出物含量; 参照蒽酮-硫酸法^[10]测定茶叶多糖含量; 参照分光光度法^[11]测定茶叶中总黄酮含量; 参照 GB8313-2018 测定茶叶茶多酚含量; 参照 GB8314-2013 测定茶叶游离氨基酸含量。

1.3.2 高效液相色谱法对9种成分的检测

色谱检测条件参考梁东松的方法^[12]并加以改进, 可同时检测茶叶中 9 种化学成分。具体条件为: Agilent 1260 高效液相色谱仪, Welch 色谱柱(Ultimate XB-C18, 5 μm , 4.6 mm \times 250 mm); 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样体积: 10 μL ; 流量: 1 mL/min; 检测波长: 280 nm; 流动相: 水-乙腈, 梯度洗脱。

供试溶液制备: 精密称量 2.0 g 茶叶, 磨碎后放置锥形瓶中, 加入 $\phi=70\%$ 甲醇水溶液 10 mL 于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴浸提 20 min, 每 10 min 摇动一次, 过滤取上清液, 重复提取两次, 合并上清液, 冷却后定容至 20 mL。进样前用 0.45 μm 滤头过滤, 备用。

表 2 液相色谱梯度洗脱条件

Table 2 The gradient elution conditions for HPLC

时间/min	乙腈/(%, 体积分数)	水/(%, 体积分数)
0	5	95
15	10	90
40	20	80
50	35	65
55	85	15
65	95	5
70	95	5

1.4 数据处理

采用 Excel 2013 进行数据汇总, 利用 IBM SPSS Statistics 20 对数据进行显著性分析, 利用 Origin 2021 软件绘图。每个样品重复检测 3 次, 实验数据以平均值 \pm 标准差($X \pm SD$)表示。

2 结果与分析

2.1 各类物质检测的标准曲线

表3 待测物质的线性关系

Table 3 The linear relativity of standard substances

序号	名称	线性关系	R^2	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)
1	多糖	$y=2.2143x+0.0037$	0.9958	25~200
2	黄酮	$y=1.0888x-0.0015$	0.9993	125~1000
3	茶多酚	$y=11.76x+0.0051$	0.9994	25~200
4	游离氨基酸	$y=1.8257x-0.0067$	0.9993	75~300
5	L-茶氨酸	$y=1157x+1349.5$	0.9964	62.5~1000
6	可可碱	$y=66820x+22.114$	0.9978	62.5~1000
7	没食子儿茶素没食子酸酯	$y=1521.1x-129.33$	0.9952	125~2000
8	茶碱	$y=12512x-3565.8$	0.9958	62.5~1000
9	咖啡碱	$y=24951x-395.92$	0.9980	125~2000
10	表儿茶素	$y=6428.3x-2154.5$	0.9998	62.5~1000
11	没食子酸	$y=15409x-177.92$	0.9987	62.5~1000
12	表没食子儿茶素	$y=67517x-158.64$	0.9922	62.5~1000
13	表没食子儿茶素没食子酸酯	$y=92955x-2709.7$	0.9984	62.5~1000

注: 1~4 中, y 代表吸光度, x 代表物质浓度, 单位为 mg/mL ; 5~14 中, x 代表峰面积, y 代表物质浓度, 单位为 mg/mL 。

2.2 6类化学成分分析

2.2.1 水浸出物含量变化

茶叶的水浸出物中包含茶多酚、咖啡碱、可溶性糖、氨基酸、果胶、芳香物质等多种物质, 水浸出物含量越高说明茶叶中内含物质越丰富, 茶叶品质越优。随着陈化时间的延长, 水溶性果胶、茶多糖等成分的释放, 水浸出物含量呈上升趋势, 在陈化 5 年时, 传统工艺和现代工艺六堡茶水浸出物含量均达到最高, 分别为 566.37 mg/g 和 500.10 mg/g ; 随后, 含量呈下降趋势, 传统工艺六堡茶在陈化 10 年时含量变化不显著 ($P > 0.05$), 在陈化 15 年时, 含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)。现代工艺六堡茶在陈化 10 年时含量变化极显著 ($P \leq 0.01$), 在随后的 5 年中变化不显著 ($P > 0.05$); 在陈化时间 15 年时, 传统工艺和现代工艺六堡茶的水浸出

物含量逼近, 分别为 388.00 mg/g 和 391.47 mg/g 。原因可能是随着发酵程度的加深, 微生物对细胞壁降解^[13], 水溶性果胶、茶多糖等成分的释放, 水浸出物含量达到 566.37 mg/g 和 500.10 mg/g ; 后期, 微生物生长代谢过程, 以可溶性物质作为碳源、氮源, 加速茶叶内物质的转化, 导致可溶性物质下降。

2.2.2 干物质含量变化

茶叶中干物质包括有机化合物和无机化合物。随着陈化时间的延长, 传统和现代工艺的六堡茶中干物质含量呈逐年下降趋势。传统工艺六堡茶中干物质含量由 917.87 mg/g 降至 883.77 mg/g ; 在陈化 1~3 年时, 干物质含量变化不显著 ($P > 0.05$), 陈化 5 年时, 含量出现显著降低 ($P \leq 0.05$), 陈化 5~15 年时, 含量变化不显著 ($P > 0.05$)。在陈化 1~15 年的整个时期, 现代工艺六堡茶中干物质含量由 914.69 mg/g 降至 889.70 mg/g , 含量变化不显著 ($P > 0.05$)。干物质含量的变化与茶叶中的含水量有关, 在陈化过程中, 茶叶中的自由水会随着年份的增加而丢失^[14]; 同时, 微生物在生长过程中对营养物质的消耗、转化^[15], 多糖等含羟基的化合物增多, 容易跟水分结合, 使茶叶中结合水量增加, 导致干物质含量下降。

2.2.3 游离氨基酸含量变化

氨基酸的含量及其降解转化的产物都会影响茶叶的风味, 游离氨基酸及部分络合物可以为茶叶提供鲜爽味道^[16]。在六堡茶陈化前期 (1~5 年), 氨基酸可以作为微生物生长的碳、氮源; 同时, 氨基酸可能发生脱羧、脱氨反应, 参与醛类与花果香型的萜烯醇类物质的形成, 造成游离氨基酸含量的下降^[17], 因此游离氨基酸的含量均呈下降趋势, 传统和现代两种六堡茶中游离氨基酸含量分别由 36.17 mg/g 和 32.63 mg/g 下降至 5.33 mg/g 和 7.43 mg/g , 含量变化极显著 ($P \leq 0.01$), 与郑华等^[18]的研究结果一致。随着陈化时间延长 (5~10 年), 茶叶中蛋白质被微生物降解成氨基酸, 氨基酸含量出现短暂的回升, 传统和现代两种六堡茶中游离氨基酸含量分别升高至 14.88 mg/g 和 17.00 mg/g , 含量变化显著 ($P \leq 0.05$)。然后被微生物利用而使含量再次降低, 最终传统和现代两种工艺六堡茶中游离氨基酸含量分别为 0.60 mg/g 和 0.49 mg/g , 含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)。

2.2.4 黄酮含量的变化

黄酮是茶叶中的主要呈味物质之一，黄酮类物质及其氧化产物对茶汤的色泽与滋味都有一定的影响。在六堡茶陈化过程中，两种工艺六堡茶的黄酮的总量呈下降趋势，且变化趋势基本一致^[19]。在15年的陈化过程中，传统工艺六堡茶中黄酮含量由16.70 mg/g 降至 7.93 mg/g；其中，在陈化1~3年时，黄酮含量变化不显著 ($P > 0.05$)，3~5年时，含量变化显著 ($P \leq 0.05$)，5~10年时，含量变化显著 ($P \leq 0.05$)，10~15年时，含量变化不显著

($P > 0.05$)。相对于传统工艺，现代工艺六堡茶中黄酮的下降趋势较快，在陈化1~5年时，含量由15.67 mg/g 降至 6.57 mg/g，降解率达58%，含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)；5~10年时，黄酮含量变化不显著 ($P > 0.05$)，10~15年时，黄酮含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)。在茶叶陈化过程中，氧气、温度等环境条件会使黄酮类物质发生转化和降解；同时，黄酮类物质可以与花青素结合产生辅色素，导致黄酮含量降低^[20]。

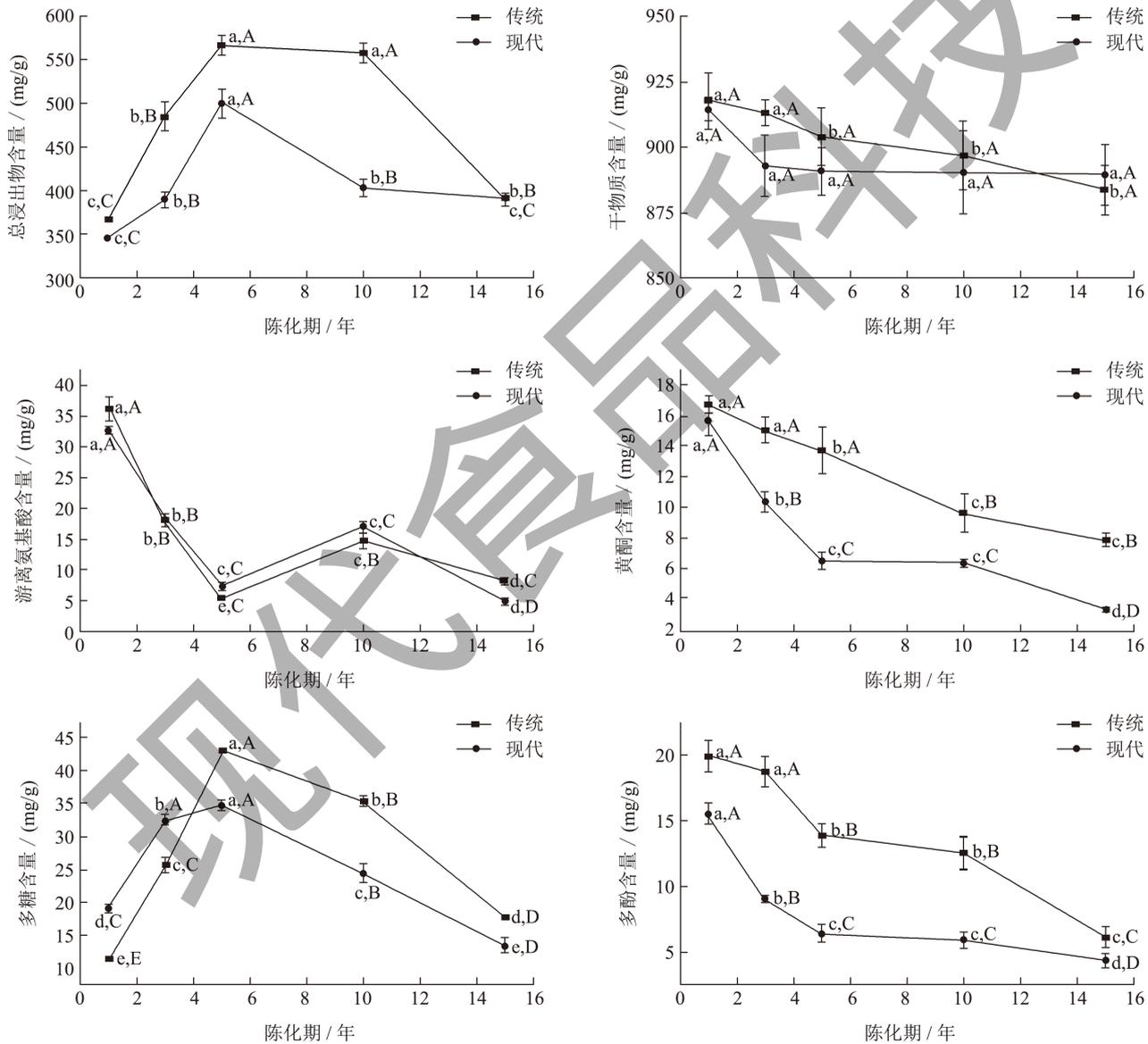


图1 不同年份六堡茶6类成分含量变化

Fig.1 Variation of six main components of Liubao tea in different years

注：图中相同标记字母即为差异不显著，不同标记字母为差异显著；小写字母表示差异显著 ($P \leq 0.05$)，大写字母表示极显著 ($P \leq 0.01$)。

2.2.5 多糖含量变化

茶多糖是一类结构复杂的糖蛋白复合物。六堡茶总多糖主要由中性糖、醛酸、蛋白质、多酚等成分组成，具有调节高脂血症大鼠的血脂水平、调节代谢综合征、调节肠道微生物等作用^[21]。传统和现代两种工艺六堡茶多糖含量均呈先上升后下降趋势，在陈化1~5年时呈上升趋势，分别由11.40 mg/g和19.07 mg/g上升至43.07 mg/g和34.80 mg/g，含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)；在陈化15年时，含量又分别下降至17.73 mg/g和13.47 mg/g，含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)。多糖含量的起伏变化，原因可能是微生物水解转化纤维素、半纤维素、果胶等不溶性多糖物质，降低了此类多糖的聚合度，提高了部分多糖的溶解度，导致茶多糖含量增加；同时微生物又以多糖作为碳源进行代谢活性，导致含量降低。

2.2.6 多酚含量变化

茶多酚包括儿茶素、花青素、酚酸等多类化合物，多酚含量是影响茶品质和茶滋味的重要指标，也是茶叶中的重要活性物质^[22]。随着陈化时间的延长，茶多酚的含量呈逐年下降趋势^[19]。陈化15年后，传统工艺六堡茶中多酚含量由19.93 mg/g降至6.13 mg/g；其中，在陈化1~3年时，多酚含量变化不显著 ($P > 0.05$)，3~5年时，含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)，5~10年时，含量变化不显著 ($P > 0.05$)，10~15年时，含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)。相对于传统工艺，现代工艺六堡茶中多酚的下降趋势较快，在陈化1~5年时，含量由15.57 mg/g降至6.43 mg/g，含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)；5~10年时，多酚含量变化不显著 ($P > 0.05$)，10~15年时，多酚含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)。原因可能是在陈化过程中，部分多酚化合物在多酚氧化酶的催化作用下氧化、聚合为茶黄素，茶黄素进而与双黄烷醇偶联氧化形成茶红素，最终促使茶褐素的形成，赋予黑茶茶汤特殊的颜色^[23]；同时，苦涩味降低，滋味变醇厚。

2.3 基于HPLC特征图谱对六堡茶中主要物质分析

2.3.1 六堡茶中主要物质的标定

为了更加直观的观察茶叶中各组分的变化规律，实验利用高效液相色谱定性定量分析技术，对绿茶与混合标准品进行比对，对茶中的标志性成分

进行定性，共标记出茶叶中9种物质，分别为：没食子酸、L-茶氨酸、可可碱、茶碱、表没食子儿茶素、咖啡碱、表没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素和没食子儿茶素没食子酸酯，结果如图2所示。同时，为了更加直观的对比不同年份的六堡茶中物质丰富度的变化，建立六堡茶的3D瀑布图，结果如图3、图4所示。陈化1年的六堡茶中主要成分种类有10余种，与绿茶中的物质组成相近；但随着陈化年份的延长，六堡茶中的物质成分快速减少，峰面积和峰的数量都呈逐年降低趋势；从陈化期为3年开始，只有咖啡碱含量明显较高，其余8种物质已经降解殆尽。

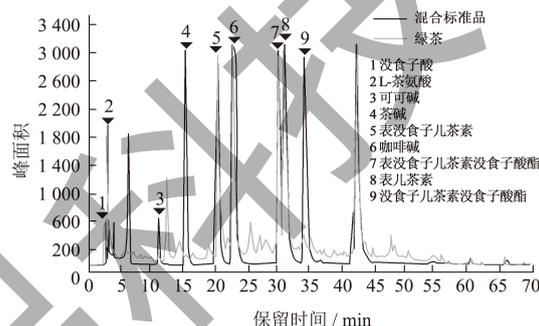


图2 标准品与茶叶样品的 HPLC 图谱

Fig.2 HPLC chromatogram of standard substance and tea sample

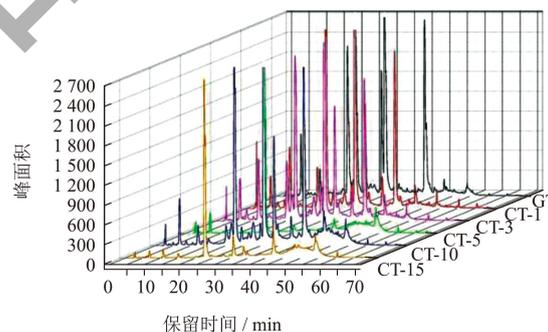


图3 不同陈化期六堡茶（传统工艺）3D瀑布图

Fig.3 3D waterfall map of Liubao tea (traditional crafts) in different aging years established by HPLC

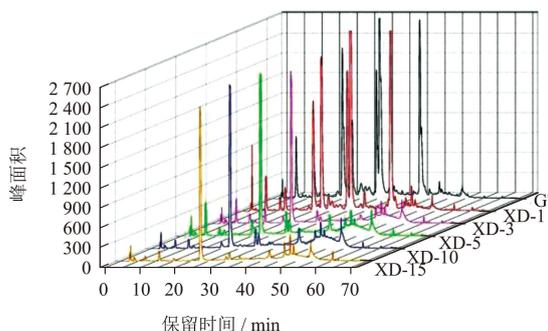


图4 不同陈化期六堡茶（现代工艺）3D瀑布图

Fig.4 3D waterfall map of Liubao tea (modern crafts) in different aging years established by HPLC

2.3.2 不同陈化年份六堡茶9种主要物质含量变化

L-茶氨酸属于游离氨基酸酰胺类物质,如表4和图5所示,L-茶氨酸在陈化1年时含量最高,传统工艺和现代工艺六堡茶中含量分别为19.11 mg/g和17.11 mg/g。随着陈化时间延长,传统工艺六堡茶,在陈化1~5年时,L-茶氨酸含量逐年下降,且含量变化极显著($P \leq 0.01$);陈化10年时,含量出现极显著升高($P \leq 0.01$);在陈化15年时,含量达到最低值为0.23 mg/g,含量极显著降低($P \leq 0.01$)。现代工艺六堡茶在陈化1~3年时,L-茶氨酸含量逐年下降,且含量变化极显著($P \leq 0.01$);3~10年含量呈上升趋势,且含量变化显著($P \leq 0.05$);陈化10~15年时,含量呈下降趋势,含量变化极显著($P \leq 0.01$)。对于L-茶氨酸的含量起伏变化分析原因:一是因为氨基酸可以利用微生物酶的催化功能,连续完成氨基酸脱氨和脱羧过程,转化为芳香类物质,导致含量下降^[24]。二是微生物连续分泌大量蛋白酶,蛋白质源源不断的分解成氨基酸,由此增加了茶叶中游离氨基酸的含量,所以氨基酸的含量呈S型曲线变化。

传统工艺六堡茶中,陈化1~5年时,咖啡碱含量呈极显著下降趋势($P \leq 0.01$);陈化10年时,咖啡碱含量升高至18.27 mg/g,含量极显著提高($P \leq 0.01$);陈化15年时含量又降至13.73 mg/g,差异极显著($P \leq 0.01$)。现代工艺六堡茶中,在陈化1~3年时,咖啡碱含量由18.47 mg/g升高至25.38 mg/g,含量极显著提高($P \leq 0.01$);在陈化5~10年时,含量维持在15.62~16.38 mg/g,含量变化显著($P \leq 0.05$),陈化15年时,含量出现极显著降低($P \leq 0.01$),降至13.02 mg/g。

传统工艺六堡茶中,可可碱含量在陈化1~3年时,含量基本不变($P > 0.05$),陈化5年时,含量出现急剧下降,由3.69 mg/g下降至0.11 mg/g,差异极显著($P \leq 0.01$);在10~15年时,含量呈波动变化,含量极显著变化($P \leq 0.01$)。现代工艺六堡茶中,可可碱含量一直处于较低水平,含量在0.38~0.63 mg/g之间波动,陈化1~5年时,含量变化极显著($P \leq 0.01$),10~15年时,含量变化显著($P \leq 0.05$)。

传统工艺六堡茶中,茶碱含量在陈化1~3年时,含量基本不变($P > 0.05$),陈化5年时,含量出现极显著下降($P \leq 0.01$),陈化10年时,茶碱含量升高至4.59 mg/g($P \leq 0.01$),陈化15年

时,含量又降至3.48 mg/g,与陈化5年时的含量接近($P \geq 0.05$)。现代工艺六堡茶中,陈化1~3年时,茶碱含量由6.66 mg/g显著降低至3.43 mg/g($P \leq 0.01$),3~10年时含量变化不大($P \geq 0.05$),在陈化15年时,含量极显著降低($P \leq 0.01$)。

咖啡碱、可可碱和茶碱均属于生物碱^[25]。六堡茶在陈化过程中,以咖啡碱为代表的生物碱类物质总含量上下波动^[26]。分析原因可能因为咖啡因类物质有不同的存在状态,分为游离态和结合态。咖啡因与茶叶中的一些色素、蛋白质、多糖等结合,随着陈化发酵的延长,蛋白质、多糖等物质含量的变化,生物碱类物质在游离态和结合态之间转化,从而影响生物碱的含量^[27]。

传统工艺六堡茶中,陈化1~5年时,没食子酸含量由0.81 mg/g下降至0.39 mg/g,含量变化极显著($P \leq 0.01$);在陈化5~15年时,含量变化不显著($P \geq 0.05$)。现代工艺六堡茶中,陈化1~3年时,没食子酸含量由0.65 mg/g降至0.58 mg/g,含量变化极显著($P \leq 0.01$);陈化3~10年,含量变化不显著($P \geq 0.05$);陈化10~15年,含量变化显著($P \leq 0.05$)。

传统工艺六堡茶中,陈化1~10年时,表没食子儿茶素含量由4.17 mg/g下降至0.10 mg/g,含量变化极显著($P \leq 0.01$);陈化10~15年时,含量变化不显著($P \geq 0.05$)。现代工艺六堡茶中,陈化1~5年时,表没食子儿茶素含量由6.98 mg/g下降至0.39 mg/g,含量变化极显著($P \leq 0.01$);陈化5~15年时,含量变化不显著($P \geq 0.05$)。

传统工艺六堡茶中,陈化1~10年时,没食子儿茶素没食子酸酯含量变化不显著($P \geq 0.05$),陈化10~15年时,含量由12.60 mg/g降至4.44 mg/g,含量变化极显著($P \leq 0.01$)。现代工艺六堡茶中,陈化1~3年时,没食子儿茶素没食子酸酯含量由13.57 mg/g下降至4.17 mg/g,含量变化极显著($P \leq 0.01$);陈化3~10年时,含量变化不显著($P \geq 0.05$);陈化10~15年时,含量变化极显著($P \leq 0.01$)。

传统工艺六堡茶中,陈化1~3年时,表没食子儿茶素没食子酸酯含量变化不显著($P \geq 0.05$),陈化3~15年时,含量由4.15 mg/g显著下降至无检出($P \leq 0.01$);现代工艺六堡茶中,陈化1~3年时,表没食子儿茶素没食子酸酯含量由5.83 mg/g下降至1.17 mg/g,含量变化极显著($P \leq 0.01$);陈化

3~5年时, 含量变化不显著 ($P \geq 0.05$); 陈化5~15年时, 含量由1.17 mg/g下降至0.44 mg/g, 含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)。

传统工艺六堡茶中, 陈化1~5年时, 表儿茶素含量变化不显著 ($P \geq 0.05$), 陈化5~15年时, 表儿茶素含量由15.23 mg/g下降至6.59 mg/g, 含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)。现代工艺六堡茶中, 表儿茶素含量呈逐年下降趋势, 由12.06 mg/g下降至6.38 mg/g, 含量变化极显著 ($P \leq 0.01$)。

茶叶中多酚类化合物包括儿茶素类、黄酮及黄酮苷类、花青素及花白素类和酚酸及缩酚酸类四大类^[28]。从表4和图5可以看出, 多酚类化合物整体呈现不断下降趋势, 并且在陈化1~5年之间下降速度较快, 随后缓慢下降。在整个陈化周期, 没食子酸、表没食子儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素等5种多酚化合物均达到较低水平, 没食子酸降解率超过30%, 没食子儿茶素没食子酸酯降解率超过68%, 表没食子儿茶素降解率超过95%, 表没食子儿茶素没食子酸酯降解率超过92%, 表儿茶素降解率超过47%。分析原因, 可能是因为茶叶中的单宁能够被微生物水

解, 一小部分酯型儿茶素可能被水解生成没食子酸, 使没食子酸含量增多。黑曲霉和塔宾曲霉等曲霉生物在代谢过程中, 可降解表没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯、没食子儿茶素没食子酸酯^[29]。同时, 没食子酸可转化为 β -葡萄糖基甘油和没食子酸甲酯^[30]。因此, 在一产多耗的机制下, 以没食子酸和儿茶素为主要化合物的多酚类物质呈现出逐年下降的趋势。

从表4和图5可以看出, 传统和现代两种工艺的六堡茶, 各类物质的变化趋势相同; 但是现代工艺中各物质在陈化前期的转化要快一些, 但在陈化15年后, 各物质的含量基本接近。随着陈化时间的延长, 制作工艺的差异对六堡茶的影响越加不明显。分析原因可能是现代工艺六堡茶采用冷水渥堆发酵技术, 人工增加茶叶的含水量, 并延长了渥堆发酵时间; 这一技术改进有利于微生物丰富度的保留, 并且水分含量的增加也促进了微生物的代谢活动, 从而达到发酵速度更快的效果。但六堡茶在陈化15年后, 各物质已经基本达到稳定状态, 相同物质的含量基本接近, 制作工艺所带来的成分变化越加不明显。

表4 不同陈化年份六堡茶中各物质含量占比

Table 4 Percentage composition of each substance in Liubao tea of different aging years

物质名称	工艺类型	物质含量占比/(mg/g)				
		1年	3年	5年	10年	15年
L-茶氨酸	传统	19.11 ± 0.04 ^{aA}	7.98 ± 0.40 ^{cB}	4.09 ± 0.24 ^{dC}	8.73 ± 0.53 ^{bB}	0.26 ± 0.023 ^{eD}
	现代	17.11 ± 0.85 ^{aA}	0.58 ± 0.03 ^{dC}	1.89 ± 0.12 ^{cB}	2.81 ± 0.19 ^{bB}	—
咖啡碱	传统	19.87 ± 1.01 ^{aA}	17.10 ± 0.86 ^{cA}	11.71 ± 0.70 ^{bB}	18.27 ± 1.11 ^{bC}	13.73 ± 0.83 ^{cB}
	现代	18.47 ± 0.93 ^{bA}	25.38 ± 1.27 ^{aB}	15.62 ± 0.91 ^{cB}	16.38 ± 0.97 ^{bB}	13.02 ± 0.77 ^{dC}
可可碱	传统	3.66 ± 0.21 ^{aA}	3.69 ± 0.17 ^{aA}	0.11 ± 0.02 ^{dC}	1.17 ± 0.07 ^{bB}	0.40 ± 0.02 ^{cC}
	现代	0.63 ± 0.03 ^{aA}	0.45 ± 0.02 ^{bB}	0.38 ± 0.03 ^{cC}	0.44 ± 0.02 ^{cB}	0.49 ± 0.02 ^{bB}
茶碱	传统	6.39 ± 0.32 ^{aA}	6.01 ± 0.30 ^{aA}	3.49 ± 0.19 ^{cC}	4.59 ± 0.27 ^{bB}	3.48 ± 0.20 ^{cC}
	现代	6.66 ± 0.32 ^{aA}	3.43 ± 0.17 ^{bB}	3.24 ± 0.19 ^{bB}	3.51 ± 0.21 ^{bB}	—
没食子酸	传统	0.81 ± 0.05 ^{aA}	0.74 ± 0.02 ^{bA}	0.39 ± 0.02 ^{cB}	0.38 ± 0.02 ^{cB}	0.33 ± 0.03 ^{cB}
	现代	0.65 ± 0.02 ^{aA}	0.58 ± 0.01 ^{bB}	0.56 ± 0.02 ^{bB}	0.53 ± 0.01 ^{bB}	0.45 ± 0.02 ^{cC}
表儿茶素	传统	16.94 ± 0.84 ^{aA}	15.38 ± 0.76 ^{aA}	15.23 ± 0.92 ^{aA}	11.50 ± 0.70 ^{bB}	6.59 ± 0.41 ^{cC}
	现代	12.06 ± 0.59 ^{aA}	10.49 ± 0.53 ^{bA}	9.17 ± 0.55 ^{cB}	8.07 ± 0.46 ^{cC}	6.38 ± 0.37 ^{dB}
没食子儿茶素没食子酸酯	传统	14.18 ± 0.69 ^{aA}	13.32 ± 0.68 ^{aA}	12.78 ± 0.79 ^{aA}	12.60 ± 0.76 ^{aA}	4.44 ± 0.26 ^{bB}
	现代	13.57 ± 0.67 ^{aA}	4.17 ± 0.21 ^{bB}	3.51 ± 0.21 ^{bB}	3.31 ± 0.19 ^{bB}	1.13 ± 0.07 ^{cC}
表没食子儿茶素没食子酸酯	传统	4.19 ± 0.20 ^{aA}	4.15 ± 0.21 ^{aA}	1.65 ± 0.10 ^{bB}	0.33 ± 0.02 ^{cC}	—
	现代	5.83 ± 0.30 ^{aA}	1.17 ± 0.04 ^{bB}	0.99 ± 0.04 ^{bB}	0.76 ± 0.05 ^{cB}	0.44 ± 0.02 ^{dC}
表没食子儿茶素	传统	4.17 ± 0.22 ^{aA}	2.67 ± 0.12 ^{bB}	1.01 ± 0.05 ^{cC}	0.10 ± 0.02 ^{dD}	—
	现代	6.98 ± 0.35 ^{aA}	0.96 ± 0.04 ^{bB}	0.39 ± 0.02 ^{cB}	0.40 ± 0.01 ^{cB}	0.12 ± 0.02 ^{cC}

注: “—”表示未检出。字母“a、b、c、d”相同标记字母的即为差异不显著, 不同标记字母的为差异显著; 小写字母表示显著水平 $\alpha \leq 0.05$, 大写字母表示显著水平 $\alpha \leq 0.01$ 。

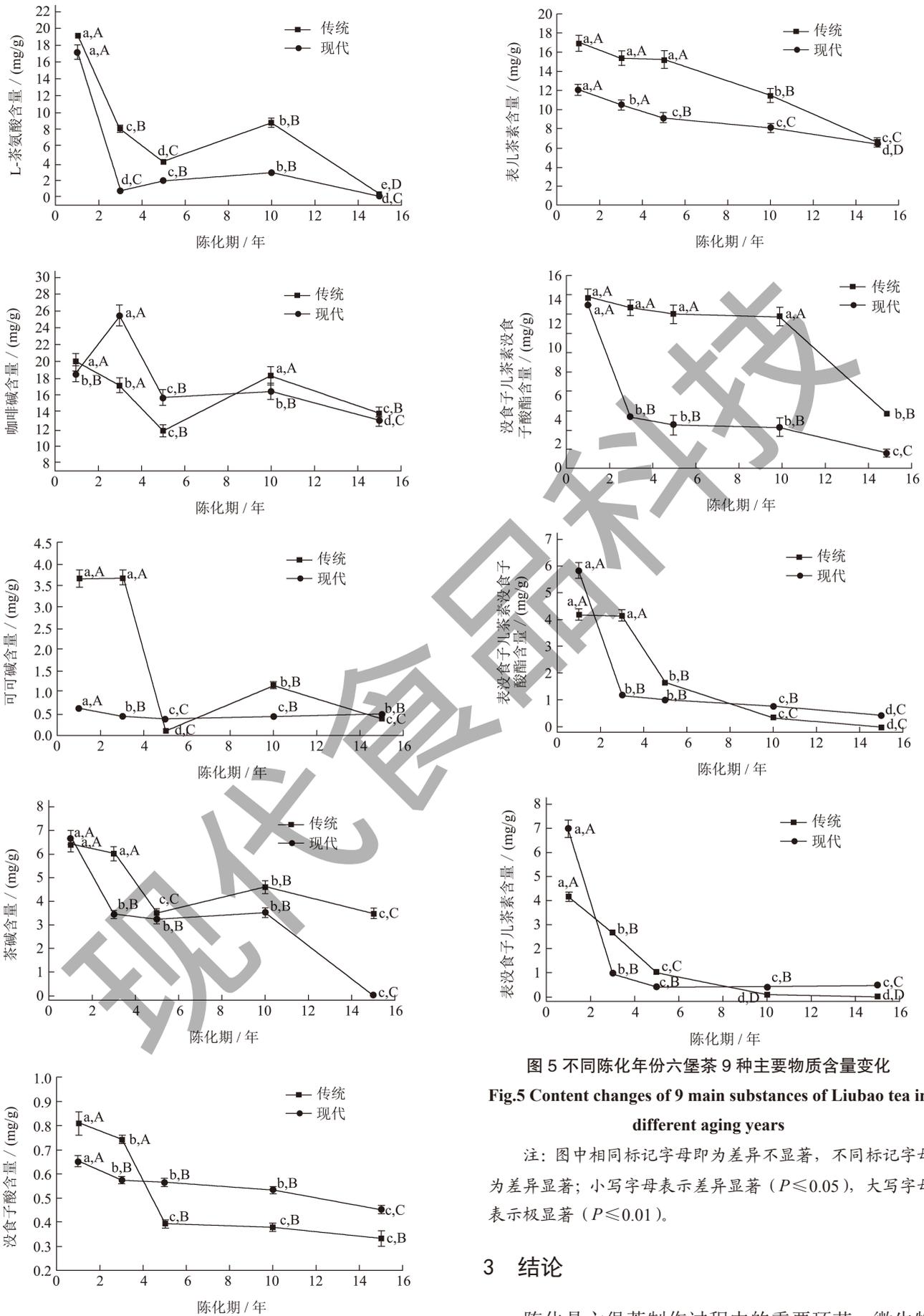


图5 不同陈化年份六堡茶9种主要物质含量变化

Fig.5 Content changes of 9 main substances of Liubao tea in different aging years

注: 图中相同标记字母即为差异不显著, 不同标记字母为差异显著; 小写字母表示差异显著 ($P \leq 0.05$), 大写字母表示极显著 ($P \leq 0.01$)。

3 结论

陈化是六堡茶制作过程中的重要环节。微生物

对纤维素、半纤维素等不溶性多糖的水解,导致多糖含量的变化,为六堡茶的“浓”提供了物质基础;同时,茶汤中的茶多酚及其氧化产物与咖啡因、蛋白质、少量多糖等物质通过氢键、盐键等相互作用,导致茶汤出现“冷后浑”现象,也增加了茶汤的“浓”。以L-茶氨酸为代表的游离氨基酸,随着陈化时间延长,出现波动变化,在转化中形成独特的风味物质,为六堡茶的“醇”提供了物质基础。茶叶中生物碱的活性作用多样,过量摄取会导致心悸、震颤、肠胃不适等不良反应。咖啡碱、可可碱和茶碱等嘌呤碱类物质含量在陈化过程中呈下降趋势,可以增加六堡茶的易受人群。多酚类物质呈现出逐年下降的趋势;一方面,多酚物质氧化为茶褐素,赋予了茶汤特殊的“红”;另一方面,多酚物质的降解降低了六堡茶的“涩”,带来了独特的“醇”。在陈化过程中,内含物质发生了极其复杂的变化,多种物质之间会相互影响相互作用。多酚类物质氧化程度越大,游离态咖啡碱比例下降,结合态咖啡碱的比例升高,增加了茶汤的“醇”和“鲜爽”,但是随着陈化时间的推移与物质的化学变化,游离态咖啡碱含量下降,可吸收的咖啡碱类降低,茶叶的苦涩味道下降,增加了茶叶的“陈”。六堡茶在陈化过程中各类物质的代谢和转化,对形成六堡茶“红、浓、陈、醇”的独特品质起到关键作用。

六堡茶在陈化发酵中是“有生命的”,微生物在陈化过程中起到了至关重要的作用。在后续研究中,将进一步完善实验方法,采用代谢组学技术,更加全面的分析形成六堡茶独特风味的关键物质;采用宏基因组技术,对六堡茶中功能微生物的多样性分析,以期阐释各类微生物在物质降解、转化中的贡献。

参考文献

- [1] DING Q, ZHANG B, ZHENG W, et al. Liupao tea extract alleviates diabetes mellitus and modulates gut microbiota in rats induced by streptozotocin and high-fat, high-sugar diet [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 118: 109262.
- [2] WU Z, YU W, NI W, et al. Improvement of obesity by Liupao tea is through the IRS-1/PI3K/AKT/GLUT4 signaling pathway according to network pharmacology and experimental verification [J]. *Phytomedicine*, 2023, 110: 154633.
- [3] MA W, ZHU Y, MA S, et al. Aroma characterisation of Liupao tea based on volatile fingerprint and aroma wheel using SBSE-GC-MS [J]. *Food Chemistry*, 2023, 414: 135739.
- [4] 杨麦.六堡茶冷发酵工艺:起源、衍化与影响(三)[J].*广西职业技术学院学报*,2021,14(2):8-15.
- [5] MAO Y, WEI B Y, TENG J W, et al. Analyses of fungal community by Illumina MiSeq platforms and characterization of Eurotium species on Liupao tea, a distinctive post-fermented tea from China [J]. *Food Research International*, 2017, 99: 641-649.
- [6] LI Z, HUANG L, XIA N, et al. Amount of Eurotium sp. in Chinese Liupao tea and its relationship with tea quality [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 128(6): 1658-1668.
- [7] 蒋容港,黄燕,金友兰,等.茯砖茶呈香挥发性物质及其来源[J].*食品与生物技术学报*,2021,40(9):101-111.
- [8] LI Q, HONG X, ZHENG X, et al. Characterization of key aroma compounds and core functional microorganisms in different aroma types of Liupao tea [J]. *Food Research International*, 2022, 152: 110925.
- [9] WANG J, ZHANG J, CHEN Y, et al. The relationship between microbial dynamics and dominant chemical components during Liupao tea processing [J]. *Food Bioscience*, 2021, 43: 101315.
- [10] 高琛,罗智,刘荣杰,等.“金花”菌对四种茶叶下脚料中茶多糖含量及抗氧化活性的影响[J].*茶叶通讯*,2022,49(3): 363-368.
- [11] 王丽丽,林清霞,宋振硕,等.分光光度法测定茶叶中总黄酮含量[J].*茶叶学报*,2021,62(1):1-6.
- [12] 梁冬松,王芳,韦炎治,等.高效液相色谱法同时测定发酵前后白参菌茶中六种活性成分[J].*食品与发酵工业*, 2020,46(8):234-238.
- [13] PANG B, HUANG L, TENG J, 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 Chemistry*, 2021, 361: 130034.
- [14] 吴琼.不同年份六堡茶的理化性质及冠突散囊菌的液体发酵[D].*哈尔滨:东北农业大学*,2012.
- [15] 李伟,齐桂年,邹瑶,等.四川黑茶渥堆过程中感官品质的变化及影响因子研究[J].*华南农业大学学报*,2015,36(5): 125-129.
- [16] 杨悦,华再欣,张海伟,等.定量描述分析在茶汤滋味评定中的应用[J].*食品安全质量检测学报*,2015,5:1619-1625.
- [17] 胡帅.基于微生物组学及代谢组学技术的青砖茶渥堆过程品质形成机制研究[D].*武汉:华中农业大学*,2019.
- [18] 郑华,陆世银,苏志恒,等.FTIR结合PLS-DA鉴别不同陈化时间六堡茶熟茶[J].*食品工业*,2016,37 (2):20-22.
- [19] 郑鹏程,谭荣荣,刘盼盼,等.青砖茶渥堆过程中真菌种类及品质变化研究[J].*食品科技*,2017,42(11):22-26.
- [20] 林杰,段玲靓,吴春燕,等.茶叶中的黄酮醇类物质及对感官品质的影响[J].*茶叶*,2010,36(1):14-18.

- [21] 马婉君,马士成,刘春梅,等.六堡茶的化学成分及生物活性研究进展[J].茶叶科学,2020,40(3):289-304.
- [22] 乔小燕,陈栋,刘仲华.茶叶儿茶素的癌症化学预防增效机制研究进展[J].食品与生物技术学报,2021,40(2):1-9.
- [23] WANG Q, GONG J, CHISTI Y, et al. Fungal isolates from a pu-erh type tea fermentation and their ability to convert tea polyphenols to theabrownins [J]. Journal of Food Science, 2015, 80(4): M809-M817.
- [24] 曾斌.二次渥堆主要微生物对安化黑毛茶品质的影响研究[D].长沙:湖南农业大学,2015.
- [25] 谢果,何蓉蓉,栗原博.茶叶生物碱的生物合成与代谢的研究进展[J].中国天然药物,2010,8(2):153-160.
- [26] 王腾飞,王宣军,黄业伟,等.发酵对普洱茶中游离咖啡因含量的影响[J].中国生物制品学杂志,2013,26(4):509-511.
- [27] 刘泽森,温立香,何梅珍,等.不同外形、年份六堡茶品质变化分析[J].热带农业科学,2016,36(11):81-86.
- [28] 洪叶,李厚峰,燕宇,等.茶叶中的化学成分[J].山东化工,2021,50(14):79-80,83.
- [29] 卢桂林.六堡茶真菌多样性及其茶多酚转化的探究[D].南京:南京农业大学,2020.
- [30] LUO X, WANG J, SUN X, et al. Difference analysis on contents of gallic acid and catechins of tea resources from yunnan province [J]. Agricultural Science & Technology, 2012, 13(12): 2502.

现代食品科技