

不同酶处理对普洱茶香气成分的影响研究

林夏丹¹, 李中皓², 刘通讯², 龙潜², 黄惠仪²

(1. 广东中烟工业有限责任公司, 广东 广州 510145)

(2. 华南理工大学轻工与食品学院蛋白质研究中心, 广东 广州 510640)

摘要: 采用顶空-固相微萃取技术提取普洱茶的香气成分, 探讨了普洱茶经过过氧化物酶、风味蛋白酶、纤维素酶陈化处理后普洱茶香气成分的变化。经气质联用分析鉴定, 除烷烃类化合物外, 经过酶处理后的茶样香气物质种类较未经酶处理的茶样显著降低。空白样、过氧化物酶处理样、风味蛋白酶处理样、纤维素酶处理样分别鉴定出 34 种、21 种、23 种、24 种香气化合物。另外, 三种酶处理样品的香气成分中以甲氧基苯及其衍生物的显著增加为主要特征。

关键词: 外源酶; 普洱茶; 香气; 顶空-固相微萃取

中图分类号: TS272.5; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)05-0420-04

Effects of Enzymatic Treatments on the Aromatic Components of Puer Tea

LIN Xia-dan¹, LI Zhong-hao², LIU Tong-xun², LONG Qian², HUANG Hui-yi²

(1. China Tobacco Guangdong Industrial Corporation, Guangzhou 510145, China)(2. Protein Research center, College of Light and food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The effects of different enzymatic treatments on the aromatic components of Puer tea were investigated by the headspace solid-phase micro extraction (HS-SPME) and capillary gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) to determine the volatiles in Puer tea. Results indicated that the kinds of aromatic components of the tea samples treated by enzymes were significantly less than the untreated. 34, 21, 23 and 24 kinds of volatile compounds were identified in the tea samples treated by vacancy, peroxidase, flavourzyme and cellulase, respectively. In addition, the enzymatic treatments greatly improved the contents of methoxy benzene and their derivatives.

Key words: enzymes; puer tea; aroma; headspace solid phase micro-extraction

普洱茶属于后发酵茶, 具有陈香显著的特点。“越陈越香”已成为引导普洱茶消费的主要指标和决定其价格的重要因素^[1]。相关理论和研究主要认为: 在普洱茶制造过程中, 特别是在渥堆工序中, 酶促作用、微生物作用和湿热作用导致普洱茶内部物质之间的氧化、还原、化合、分解、酯化、异构化等复杂反应, 最终引起和促进芳香物质的产生^[2]。目前关于酶系对普洱茶香气方面的影响研究在国内外鲜有报道。

本研究采用顶空—固相微萃取方法 (HS-SPME) 提取挥发性成分, 并与气相色谱—质谱 (GC-MS) 联用, 对普洱茶的挥发性成分进行了比较研究, 探讨了过氧化物酶、风味蛋白酶和纤维素酶对成品普洱茶香气成分的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

2006 年普洱茶; 过氧化物酶 (辣根), 酶活力 150

收稿日期: 2008-01-23

基金项目: 华南理工大学 SRP 项目资助

U/mg, 上海伯奥生物科技有限公司; 风味蛋白酶 (Flavourzyme), 酶活力 50 U/mg, Novozymes 公司; 纤维素酶, 酶活力 15 U/mg, 上海伯奥生物科技有限公司。

1.2 分析方法^[3]

1.2.1 SPME 萃取方法

取粉碎茶样 3.00 g 于 200 mL 样品瓶中, 加入热 NaCl 溶液 70 mL (NaCl 溶液的质量浓度为 0.32 g/mL), 磁力搅拌水浴 50 °C 条件下, 固相微萃取纤维 DVB/CAR/PDMS (二乙烯基苯-碳烯-聚二甲硅氧烷共聚物) 萃取 60 min, 于 230 °C 脱附 3 min 进样。

1.2.2 GC-MS 分析条件

DB-5 石英毛细管柱 (长 30 m, 内径 0.25 mm, 液膜厚度 0.1 μm), 载气 He (99.99%), 流速 1.0 mL/min。进样口温度 230 °C, 固相微萃取进样脱附 5 min。程序升温: 70 °C 保持 1 min, 以 3 °C/min 升至 120 °C, 保持 2 min, 以 5 °C/min 升至 180 °C, 保持 20 min。EI 离子源温度 170 °C, 电子能量 70 eV, 光电倍增管电压 350 V。质量扫描范围 35~335 amu。

1.2.3 谱图分析

按上述分析条件对香气成分进行气相色谱-质谱分析,利用 NIST 及 WILEY 两个谱库,对得到的质谱图进行串连检索,并与有关文献进行核对,进行人工解析,再结合保留时间、质谱、实际成分和保留指数等参数对部分组分进一步确定。同时对总离子流量(TIC)用峰面积归一化定量,得到各组分的相对含量。

1.3 样品处理

分别配制一定酶活水平的酶稀释溶液(过氧化物酶液: 6 U/mL; 风味蛋白酶液: 500 U/mL; 纤维素酶液: 150 U/mL),以液茶比为 1:10 (V/m)^[5],用小型喷雾器均匀地喷洒在普洱散茶上,分别记作 A、B、C 样,用相同方式喷洒蒸馏水作为空白样(CK),将处理的样品置于通风处室温贮藏一定时间后进行香气检测。

2 结果与分析

2.1 主要香气物质组成

表 1 和图 1、2、3、4 的结果表明,除去烷烃类成分外^[3],在空白样(CK)、过氧化物酶处理样(A)、风味蛋白酶处理样(B)以及纤维素酶处理样(C)四个样品中,分别鉴定出 34 种、21 种、23 种、24 种香气化合物,经检测出的香气成分占香气总量的比例分别为 88.93%、82.88%、93.07%、98.62%。图 5 结果同时显示,四种茶样均以甲氧基苯及其衍生物和萜烯醇类化合物及其衍生物为主。未经酶处理的茶样,香气成分最多,其中含量最高的香气成分依次为:沉香醇氧化物、1,2,3-三甲氧基苯、邻苯二甲酸异丁基酯、3,4-二甲氧基甲苯、1,2,3-三甲氧基-5-甲基苯、1,2-甲氧基苯、萜品醇等;经过酶处理的茶样,香气成分明显减少,其主要成分为甲氧基苯及其衍生物、沉香醇氧化物、三正葵醇、2-甲基-1-正癸醇、4-乙基-1,2-二甲基-苯、4,6-二甲基-2-庚酮、乙酰丁香酮、雪松醇等。

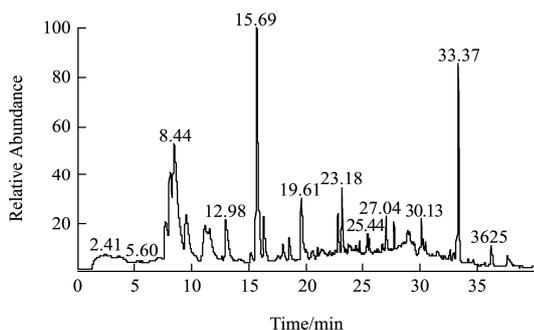


图 1 CK 样香气成分 GC-MS 总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of aroma compounds of CK

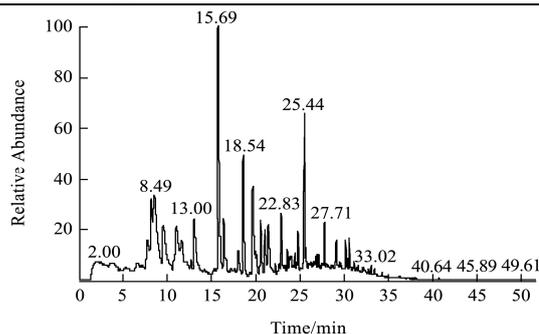


图 2 过氧化物酶处理样香气成分 GC-MS 总离子流图

Fig.2 Total ion chromatogram of aroma compounds of puer tea

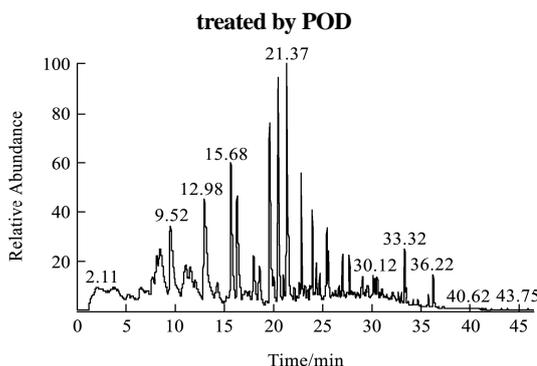


图 3 风味蛋白酶处理样香气成分 GC-MS 总离子流图

Fig.3 Total ion chromatogram of aroma compounds of puer tea

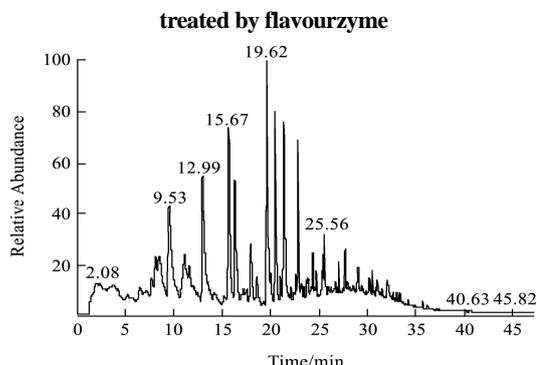


图 4 纤维素酶处理样香气成分 GC-MS 总离子流图

Fig.4 Total ion chromatogram of aroma compounds of puer tea

2.2 香气物质构成特征

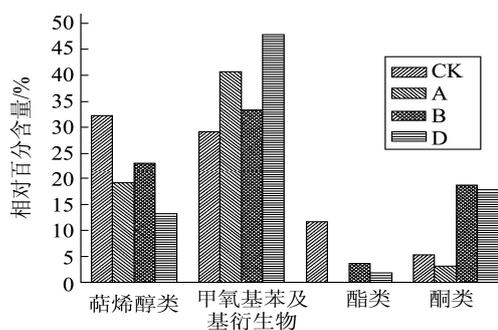


图 5 不同处理条件下香气成分比较

Fig.5 Comparison of aroma compounds of different tea sample

表1 不同酶处理各样品香气成分及其相对含量

Table 1 Aromatic components and relative contents in Pu-er teas with different enzymes treatments

编号 /NO.	香气成分/ Aromatic components	相对含量%/Concentration			
		CK	A	B	C
1	沉香醇氧化物(呋喃型)/Linalool oxide (CIS)	3.62			
2	反-沉香醇氧化物(呋喃型)/Linalool oxide trans	23.26	4.38	3.25	
3	1,2-二甲氧基苯/1,2-dimethoxy-benzene,	3.55		0.25	3.26
4	沉香醇氧化物(吡喃型)/Linalool Z-Pyranic oxide	3.2	5.94		
5	2-羟基-4-甲基苯甲醛/2-hydroxy-4-methylbenzaldehyde				1.71
6	α-萜品醇/L-α-terpineol	1.76	2.41		
7	3,4-二甲氧基甲苯/3,4-dimethoxytoluene	3.82	5.77	4.29	10.2
8	3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛/3,7-dimethyl-2,6-octadienal			0.14	
9	乙酸冰片酯/Bornyl acetate	0.52			
10	1,2,3-三甲氧基苯/1,2,3-Trimethoxybenzene	15.41	24.23	10.82	11.58
11	4-乙基-1,2-二甲氧基苯/4-ethyl-1,2-dimethoxy-benzene	2.59	4.68	7.39	8.08
12	十二烷基环己醇/ dodecyl-cyclohexanol,		0.95		
13	5-甲氧基-2,3,4-三甲苯/5-methoxy-2,3,4-trimethyl-phenol	0.23			
14	1,2,4-三甲氧基苯/1,2,4-Trimethoxybenzene	1.03	1.74	3.02	3.71
15	2-异丙基-4-甲基-2-己烯醛/2-ixopropyl-4-methylhex-2-enal				0.79
16	1,2,3-三甲氧基-5-甲基苯/1,2,3-trimethoxy-5-methyl-benzene	3.69	7.64	13.01	16.35
17	1,2-二甲氧基-4-n-丙基苯/1,2-dimethoxy-4-n-propylbenzene	0.47	1.28	1.5	1.54
18	4,6-二甲基-2-庚酮/4,6-dimethyl-2-heptanone			12.69	10.41
19	三甲基乙酸香芹烯酯/Limonen-6-ol,pivalate	0.46			0.82
20	1,2,3,4-四甲氧基苯/1,2,3,4-tetramethoxybenzene	0.48			
21	三正癸醇/Tridecanol		4.98		
22	2-甲基-1-正癸醇/2-methyl-1-Decanol			16.06	12.44
23	2-甲氧基萘/2-methoxy-Naphthlene	0.38			
24	香叶基丙酮/2,6-Dimethyl-2,6-undecadien-10-one	0.15			
25	六氢-4,4,7a-三甲基-2(3H)-香豆酮/ hexahydro-4,4,7a-trimethyl-2(3H)-benzofuranone	0.26			
26	乙酰丁香酮(CAS)/1-(4-Hydroxy-3,5-Dimethoxyphenyl)-Ethanone	1.6	2.74	5.36	6.41
27	新郁金二酮/Neocurdione	2.65			
28	香木兰烯氧化物/Aromadendrene oxide	0.29	0.15		
29	5,6,7,7a-四氢-4,7a-三甲基-2(4H)-香豆酮/5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-2(4H)-benzofuranone		0.06		
30	1-Heptadecene/1-十七碳烯			2.6	
31	2,6-二异丁基-4-甲基-苯乙基-2-异丁基环丙甲酸 /2,6-di-t-butyl-4-methyl-phenylester-2-t-butyl-cyclopropanecarboxylic acid.		0.37	1.03	
32	10-甲基-8-烯-1-醇酯/10-Methyl-8-tetradecen-1-ol acetate				1.3
33	2,6-二叔丁基对甲酚/Butylated hydroxytoluene	0.35			
34	1,2,3-三甲氧基-5-烯丙基苯/1,2,3-trimethoxy-5-(2-propenyl)-benzene			0.4	0.65
35	4-[n-丙基]-2,4-二甲基苯胺/4-[n-propylamino]-2,5-dimethoxyaniline		0.69		
36	3-乙酰基-2,6-二羟基-4-甲氧基苯甲醛/3-acetyl-2,6-dihydroxy-4-methoxy-benzaldehyde				1.99
37	4-[n-丙基]-2,5-二甲基苯胺/4-[n-propylamino]-2,5-dimethoxyaniline	0.54			
38	二乙基邻苯二甲酯/Diethyl phthalate	0.16			
39	4-羟基-α-紫罗兰酮/4-Hydroxy-α-ionone			0.28	
40	1,2,4-三甲氧基-5-(1-丙烯基)-苯/1,2,4-trimethoxy-5-(1-propenyl)-benzene				0.41
41	雪松醇/α-Cedrol		0.36	1.17	0.77
42	2-甲基-1-(1,1-二甲基乙基)-2-甲基-1,3-丙二醇二丙酸酯 /2-methyl-1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediylester -propanoic acid	0.97			
43	(Z)-(Z)-1,1-二甲氧基-9-十八烯/1,1-dimethoxy-9-octadecene				0.1
44	3,4-二乙基-1,1'-联苯/3,4-diethyl-1,1'-Biphenyl	1.25			
45	3,5,3',5'-四甲基联苯/3,5,3',5'-tetramethylbiphenyl			0.32	
46	9,10-二氢-11,12-丁二酮-9,10-乙酰基/9,10-dihydro-11,12-diacetyl-9,10-ethanonanthracene		0.19		
47	菲/Phenanthrene				0.42
48	肉豆蔻酸/Tetradecanoic acid	0.3			
49	咖啡因/Caffeine	0.08	0.29	0.24	1.31
50	邻苯二甲酸异丁基酯/1,2-Benzene dicarboxylic Acid, BIS(2-Methylpropyl) Ester	8.88	0.1	1.74	0.24
51	6,10,14-三甲基-2-十五酮/6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone		0.27	0.44	0.19
52	邻苯二甲酸丁辛酯/1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester			0.22	
53	邻苯二甲酸二丁基酯/1,2-Benzene dicarboxylic Acid, Dibutyl Ester	0.25			
54	2-甲基-1-十六醇/2-methyl-1-Hexadecanol	0.16			
55	邻苯二甲酸丁基癸酯/1,2-benzenedicarboxylic acid,butyldecylester	0.87			
56	1,2-苯二甲酸二丁酯/Dibutyl phthalate			1.61	0.1
57	棕榈酸/Hexadecanoic Acid	0.90			
烷烃类		4.2	13.66	5.24	3.84
合计		88.93	82.88	93.07	98.62

图5显示,经过酶处理后各类物质含量差异显著。从香气物质的类型看,四个茶样都以萜烯醇类、甲氧

基苯及其衍生物类、酯类和酮类为主,其含量空白样依次为 32.29%、29.06%、11.65%、5.12%;过氧化物酶处理样依次为 19.17%、40.66%、0.1%、3.01%;风味蛋白酶处理样依次为 23.08%、33.29%、3.57%、18.77%;纤维素酶处理样依次为 13.21%、47.8%、1.64%、17.83%。酶处理后的茶样香气物质构成的主要特点为:与空白样相比,其甲氧基苯及其衍生物类化合物均明显增加,其中以纤维素酶处理增加最多,增幅达 64.5%;萜烯醇类和酯类化合物则有明显减少;对于酮类化合物,除过氧化物酶处理样减少外,风味蛋白酶和纤维素酶处理样均有一定程度增加。

3 讨论

目前,采用茶汤的挥发性成分来研究普洱茶香气在国内外鲜有报道,它能够更真实地反映茶叶浸泡后的香气,是一种研究普洱茶香气品质的新途径,为茶叶感官评审提供客观的依据。通过本研究的结果发现,经过不同酶处理后,普洱茶香气成分发生显著变化,其香气成分数量明显减少,而共有香气成分含量除萜烯醇类化合物外,其它物质则明显增加。空白样是以沉香醇氧化物为代表的萜烯醇化合物为主,而三种酶处理后的普洱茶样均以 1,2,3-三甲氧基-5-甲基苯为代表的甲氧基苯及其衍生物为主,其中,过氧化物酶处理样中的甲氧基苯及其衍生物含量最高,占 40.66%。有研究表明,甲氧基苯及其衍生物类物质能够有效地改善茶叶的粗老味,使普洱茶香味陈醇,是黑茶类的

重要陈香特征香气之一^[6]。同时,在风味蛋白酶和纤维素酶处理样中,还检测到大量的以 4,6-二甲基-2-庚酮和乙酰丁香酮为代表的酮类等化合物。这可能是由于外援酶促作用与微生物作用协同作用的结果^[6]。

由此研究推测,经过过氧化物酶处理后,普洱茶香气成分大量氧化聚合^[7],而风味蛋白酶和纤维素酶则促进了普洱茶内部蛋白质和多糖的降解^[8],并协同微生物作用,最终使经酶处理后普洱茶具有独特的陈香型,但是酶促过程中有关酶促以及微生物作用对普洱茶的形成机理尚待进一步的研究。

参考文献

- [1] 张灵枝,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
- [2] 周红杰.云南普洱茶[M].云南科技出版社,2004,48:51-54
- [3] 张灵枝,等.不同干燥方式对普洱茶香气的影响研究[J].茶叶科学,2007,27(1):71-75
- [4] 龚淑英,周树红.普洱茶贮藏过程中主要化学成分含量及感官品质变化的研究.[J].茶叶科学,2002,22(1):51-56
- [5] 顾谦,陆锦时,等.茶叶化学[M].中国科学技术大学出版社,2002
- [6] 李中皓,刘通讯.过氧化物酶对成品普洱茶品质成分的影响研究[J].现代食品科技,2007,23(7):29-31
- [7] 王豹祥.陈化烤烟叶面优势菌种的筛选定位与增香效应研究[D].河南农业大学,2006:11-21

(上接第 443 页)

参考文献

- [1] 吴燕燕,李来好,等.酶法由罗非鱼加工废弃物制取调味料的研究[J].南方水产,2006,2(1):49-53
- [2] 孔美兰,吉宏武,章超桦.罗非鱼下脚料自溶条件的初步探讨[J].湛江海洋大学学报,2005,25(4):27-31
- [3] 大连轻工业学院,华南理工大学,等.食品分析[M].北京:中国轻工业出版社,1996:216-230
- [4] Hendel C E, Bailey G F, Taylor D H. Measurement of non-enzymatic browning of hydrated vegetables during storing storage[J].Food Technology,1950,3:44-48
- [5] 冷耀宗.鱼露发酵和 pH 值变化规律初探[J].中国调味品,1988,(8):9-10
- [6] Lopetcharat, K., Choi, Y. J., Park, J. W., & Daeschel, M. A. Fish sauce products and manufacturing: a review[J]. Food Reviews International,2001,17:65-68
- [7] 刘培芝.谈谈提高鱼露质量的一些技术措施[J].中国调味品,1988,(8):15-18