

文章编号:1671-1513(2012)01-0046-05

广西六堡茶主要特征成分分析

刘小玲¹, 李颖^{1,2}, 姜元欣¹, 庾翔¹

(1. 广西大学轻工与食品工程学院, 广西南宁 530004;

2. 广西柳州市产品质量监督检验所, 广西柳州 545006)

摘要:分析了产于广西梧州地区的7种六堡茶及其毛茶的主要特征性成分,旨在为合理评价六堡茶的品质提供理论参考。结果显示:六堡茶与其毛茶的特征性成分有显著差异。渥堆发酵导致毛茶的总酚含量显著下降、总黄酮略有降低、咖啡因及游离态儿茶素类物质含量降低、总可溶性糖及总游离氨基酸含量上升、茶褐素大量形成。这些成分的改变是六堡茶汤色红、味甘醇、口感圆润的主要原因。清除羟自由基能力的差异显示,六堡茶因含有较多的茶褐素而比毛茶具有更强的抗氧化能力。

关键词:六堡茶;特征成分;茶褐素;抗氧化

中图分类号:TS272.5

文献标志码:A

六堡茶是以梧州大叶毛茶为原料,经潮水归堆、渥堆发酵、干燥、蒸压、晾置陈化等过程而制成的特色茶^[1],因此六堡茶是黑茶的一种,属后发酵茶。因其原产于广西梧州市苍梧县六堡乡,故以地理名称命名。六堡茶具有色泽黑褐光润,耐冲泡,汤色红浓似琥珀,滋味醇和甘爽,叶底红褐色的特点,素以“红、浓、陈、醇”四绝著称^[2]。民间常用陈年六堡茶作为防病治病的良药。

六堡茶有一千多年的制茶历史,在广西、港、澳及东南亚华侨之中久负盛名。但迄今为止,六堡茶的研究报道极度缺乏,特别是对六堡茶的化学成分组成及含量方面的研究尚很少有报道。经过渥堆发酵及其陈化等工艺后,六堡茶中的各种茶叶特征成分与其毛茶的差异性也未有更多报道。因此,本文对六堡茶原料毛茶和成品茶的主要品质化学成分及组成含量进行了分析,以期为合理评价六堡茶的品质及控制生产质量提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

原料:六堡茶 LBC1,广西梧州茂圣茶业有限公司;六堡茶 LBC2,广西梧州茂圣茶业有限公司;六堡

茶 LBC3,广西梧州古鼎六堡茶业有限公司;六堡茶 LBC4,广西苍梧六堡茶业有限公司;六堡茶 LBC5,广西苍梧银泰六堡茶业有限公司;六堡茶 LBC6,广西梧州市随缘六堡茶厂;六堡茶 LBC7,广西梧州千年六堡茶业有限公司;毛茶 MC,广西柳州柳江茶厂。

试剂:茶多酚标准品,85%纯度;咖啡因,国家标准物质;儿茶素类(EC、ECG、EGCG),高纯;芦丁,标准品;乙腈,色谱纯;其它试剂均为分析纯(AR)。

1.2 仪器设备

UV-2000 型紫外-可见分光光度计,尤尼科上海仪器有限公司;1200 series 型高效液相色谱仪(1200 series 型紫外检测器、TC-C18 型色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm)),安捷伦科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 六堡茶水溶性成分的提取

定量称取 500 g 恒重的茶叶样本,按茶叶和水的比例为 1:5 加入不锈钢锅中,煮沸,浸泡 1 h,将茶汤倒出过滤,收集滤液;重复上述提取步骤,反复浸提 8~10 次,直至茶汤颜色较浅,最后将收集的滤液在 70℃ 下进行真空旋转蒸发浓缩至黏稠状,将提取物转入干燥箱 70℃ 干燥至恒重,粉碎称量,计算得到茶叶中水浸出物含量。

水浸出物含量(%) =
(提取物干重/茶叶干重) × 100%.

1.3.2 六堡茶茶褐素的制备

准确称取3 g六堡茶水浸出物用85%乙醇溶解,在磁力加热搅拌器上搅拌30 min,减压抽滤弃去不溶物,滤液经过旋转蒸发浓缩干燥,即制得茶色素粗制品.茶色素粗制品加50 mL水溶解,转移至250 mL分液漏斗,加入等体积的三氯甲烷,振摇5 min,静置分层,取上层(水相),继续加入等体积磷酸二氢钠(NaH_2PO_4)和有机溶剂乙酸乙酯混合萃取,振摇5 min,静置,保留水相,重复3次,水相再用正丁醇萃取.得到颜色红褐色的水相,将水相浓缩干燥即得到茶褐素粗制品^[3-4].

1.3.3 六堡茶成分分析

1.3.3.1 总酚的测定

采用酒石酸铁比色法,参考国家标准 GB/T8313—2002.茶多酚标准曲线回归方程为 $y = 0.3288x - 0.0156$ ($R^2 = 0.9968$),其中 x 为吸光度, y 为茶多酚溶液质量浓度.

1.3.3.2 总黄酮的测定

采用芦丁比色法^[5].芦丁标准曲线回归方程 $y = 1.0384x - 0.0099$ ($R^2 = 0.9993$),其中 x 为吸光度, y 为芦丁溶液质量浓度.

1.3.3.3 总游离氨基酸含量测定

参考 GB/T8314—2002,采用茚三酮比色法.氨基酸标准曲线回归方程为: $y = 0.0006x - 0.0022$ ($R^2 = 0.9995$),其中 x 为吸光度, y 为谷氨酸溶液质量浓度.

1.3.3.4 可溶性碳水化合物含量的测定

采用蒽酮比色法^[6].葡萄糖标准曲线回归方程为: $Y = 0.0037X - 0.0206$ ($R^2 = 0.994$),其中 X 为葡萄糖含量, Y 为溶液吸光度.

1.3.3.5 儿茶素的测定

参考 GB/T8313—2008,采用高效液相色谱法.精密称取3种儿茶素标准物质,用水配制成不同浓度的工作液,进样,用外标法进行定性与定量分析.

色谱条件:流动相 A 相9%乙腈的乙酸溶液,流动相 B 相80%乙腈的乙酸溶液,梯度洗脱;流量1 mL/min;进样量20 μL ;检测波长278 nm.

1.3.3.6 咖啡因的测定

参考 GB/T8313—2008,采用高效液相色谱法.精密称咖啡因标准物质,用水配制成不同浓度的工作液,进样,用外标法进行定性与定量分析.

色谱条件:同1.3.3.5,检测波长286 nm.

1.3.3.7 羟自由基清除率

铁氧化邻二氮菲法^[7].

2 结果与分析

2.1 茶叶中水溶性浸出物及茶褐素含量

茶叶中水浸出物是指能被水浸泡出的物质,是茶汤的主要呈味、呈色物质,也是通常人们可以通过泡茶而摄入体内的茶叶有效成分.水浸出物含量的高低反映了茶叶中可溶性物质的多少,标志着茶汤的厚薄、滋味的浓强程度,从而在一定程度上反映茶叶品质的优劣.

对7种不同厂家来源的六堡茶进行水溶性浸出物提取,六堡茶水浸出物含量分别为34.21%, 30.99%, 30.73%, 28.11%, 29.66%, 36.03%, 35.10%,水溶性浸出物平均含量约为32%.而毛茶的水浸出物含量较高,为46.41%.可见,六堡茶与毛茶的水浸出物含量相差比较大.

六堡茶是在绿茶的毛茶胚基础上通过渥堆发酵形成的一种黑茶,其制茶工艺与绿茶有显著的不同.六堡茶水浸出物含量下降,可能原因是在渥堆发酵过程中,大量微生物繁殖并分解茶叶中的物质,产生大量热量,使物料温度上升.这一变化与实际生产相符,也与周红杰^[8]等报道的一致.同时,在压制为砖茶的过程中也涉及到少量水溶性物质的流失.

2.2 茶叶及其水溶性浸出物中的总酚含量

茶多酚又叫茶单宁、茶鞣质,主要由儿茶素、黄酮类物质、花青素和酚酸四大类物质组成,是一类具有抗氧化作用的酚类化合物.它是决定茶汤滋味、颜色的主体成分,也是决定茶叶品质的关键性物质.

不同茶叶中及茶叶水溶性提取物中的总酚含量如图1.六堡茶提取物中茶多酚含量在49.24%到60.12%之间,其中LBC1样品的总酚含量最低.而毛茶提取物中总酚含量为82.18%.LBC2六堡茶中总酚含量最低为16.56%,而LBC6六堡茶最高达到21.58%,不同来源的茶叶中总酚含量差异较大.毛茶中总酚含量为28.85%.由此可见,在六堡茶的渥堆发酵加工过程中发生一系列的氧化、聚合、缩合反应,产生大量的水溶性氧化产物(主要是茶黄素、茶红素和茶褐素)和非水溶性转化物(主要是与蛋白质结合的不溶性大分子物质)^[9],致使六堡熟茶成品的多酚类物质较绿茶减少.

图1 茶叶及其提取物中的总酚含量

Fig. 1 Total phenol content of tea and tea extract

2.3 茶叶及茶叶提取物中的总黄酮含量

黄酮类化合物广泛存在于植物界,是许多中草药的有效成分.近年来,黄酮类化合物以其广谱的药理作用引人瞩目.茶叶中黄酮类物质的含量较高,茶叶在固态发酵过程中,黄酮类物质中以黄酮苷形式存在者最多.对大多数黑茶来说,“固态发酵”正是形成其独特风味的一个重要工序.然而不同来源的茶叶中黄酮的含量有所不同,这与茶叶品种、原料、技术、储存条件有关^[10].

各来源六堡茶提取物的总黄酮含量差异在4.62%~11.37%,六堡茶叶的总黄酮在1.42%~3.52%,而毛茶及毛茶的提取物的总黄酮含量均比六堡茶高(见图2).茶多酚的含量变化与总黄酮含量变化并不一致.同时,不同厂家可能因原料的差异、制作工艺的差异等,它们的总黄酮含量也不一致.

图2 茶叶及其提取物中总黄酮含量

Fig. 2 Total flavonoid content of tea and tea extract

2.4 茶叶及茶叶提取物中总游离氨基酸含量

茶叶中氨基酸的组成、含量和他们的降解产物、转化产物以及这些组分间的比例关系将直接影响到茶叶的香气和滋味,对茶叶的品质具有重要作用.

不同茶叶及其提取物中总游离氨基酸含量如图3.六堡茶水提取物的总氨基酸含量最高为7.54%,

LBC2样品总游离氨基酸含量最低6.14%,而毛茶提取物中游离氨基酸总量为6.33%.可见,六堡茶水提取物中的总游离氨基酸比毛茶水提取物中的总游离氨基酸含量约高12%.在发酵过程中,一方面,氨基酸在微生物酶的催化下产生脱氨作用和脱羧作用,转化为挥发性或非挥发性芳香物质.氨基酸被邻醌氧化,脱去氨基和羰基,形成相应的挥发性醛类^[11],从而使氨基酸含量下降.另一方面,微生物分泌的蛋白酶也可将茶叶中的蛋白质水解为氨基酸,从而增加茶叶中游离氨基酸的含量.因此,六堡茶中的游离氨基酸含量处于波动的状态.由于六堡茶水提取物中的游离氨基酸比毛茶高,而总酚总黄酮等物质比毛茶水提取物低,因此,经过发酵后,六堡茶比毛茶具有更柔和、醇鲜的滋味,而苦涩味减弱.

图3 茶叶及其提取物中总游离氨基酸含量

Fig. 3 Total free amino acids content of tea and tea extract

2.5 茶叶及其提取物中可溶性糖总含量

可溶性糖能够参与茶叶香气物质的形成,同时又是茶叶的主要呈味物质之一.茶鲜叶中的糖类物质,包括单糖、寡糖、多糖及少量其他糖类.水溶性糖是茶汤甜味的主要成分,能缓解茶汤中苦涩味物质茶多酚、咖啡碱的刺激性作用,这部分糖含量越高,茶叶滋味就越甘醇^[12].

不同厂家及茶叶来源的可溶性总糖含量如图4.六堡茶提取物中可溶性糖总含量在3.8%左右,而毛茶提取物的可溶性糖总含量为2.39%.六堡茶茶叶中可溶性糖总量平均为1.21%,而毛茶可溶性糖含量为0.91%.可见,毛茶的可溶性总糖含量无论提取物或茶叶中均比六堡茶低.可能的原因是在渥堆中由于微生物分泌的胞外酶的酶促作用下,大分子碳水化合物被分解成小分子的糖及可溶性糖.可溶性糖形成黑茶汤滋味和黏稠度,也是构成黑茶“甘”的品质特征的主要原因.本研究的结果与周红

杰^[8]等研究报道的普洱茶的可溶性糖的变化趋势基本相符. 可见,六堡茶与普洱茶具有相似性.

图4 茶叶及其提取物中可溶性糖含量
Fig.4 Soluble sugar content of tea and tea extract

2.6 茶叶提取物中咖啡因及儿茶素类含量

茶叶中的儿茶素类有三种游离型态(C, EC 以及 EGC)及两种酯化型态(ECG 及 EGCG), 其中后两种含量较高. 咖啡因与儿茶素同属茶叶中两大机能成分. 药理实验证明, 茶叶里的咖啡碱对儿茶素的防癌功效具有协同作用^[13]. 故本文分别选取儿茶素中的 EGCG、ECG、EC 及咖啡因进行分析, 从中探寻不同六堡茶及毛茶的该类物质含量变化规律.

不同厂家及茶叶来源的咖啡因及儿茶素含量如表1. 由表1可见, 茶叶及其提取物中, 咖啡因含量均比任一种儿茶素含量高, 其中毛茶的咖啡因含量较六堡茶高. 儿茶素中, EC 的含量差异较大, 其中毛茶的 EC 含量远远高于所有六堡茶的 EC 含量, 而大部分六堡茶的 EGCG 和 ECG 含量比毛茶高. 可见, 毛茶中的儿茶素主要以游离态形存在, 在后发酵过程中, EC 逐渐与没食子酸结合为酯化型态.

表1 茶叶提取物中咖啡因与儿茶素含量
Tab.1 Content of caffeine, EC, ECG and

茶叶来源	咖啡因 CF	EGCG in tea extract			g/100 g
		儿茶素 EC	儿茶素 ECG	儿茶素 EGCG	
LBC1	6. 68	0. 85	1. 09	1. 51	
LBC2	5. 61	1. 51	1. 24	1. 52	
LBC3	6. 78	0. 78	1. 06	1. 33	
LBC4	6. 97	0. 93	1. 14	1. 23	
LBC5	6. 33	0. 32	0. 45	1. 13	
LBC6	4. 04	0. 59	0. 74	1. 34	
LBC7	6. 66	0. 53	0. 79	1. 28	
MC	7. 16	1. 93	0. 86	1. 16	

2.7 不同提取物清除羟自由基能力

羟基自由基是最活泼的自由基, 它可与活细胞中的任何分子发生反应而造成损害, 且反应速度快,

对细胞等组织的毒性强, 可导致许多病理变化. 茶褐素系指从茶叶中分离得到的一类能溶于水而不溶于乙酸乙酯和正丁醇的褐色色素^[14]. 六堡茶在渥堆发酵过程中, 茶多酚在微生物所分泌酶的参与及湿热作用下, 被氧化成初级氧化产物邻醌. 邻醌极不稳定, 可还原形成黄烷醇类, 也可氧化生成次级氧化产物茶黄素等. 随发酵进程, 茶黄素类不断减少, 这些物质可进一步氧化缩合生成茶红素, 茶红素可进一步氧化形成茶褐素^[15]. 因此, 比较六堡茶提取物、毛茶提取物及六堡茶茶褐素的清除羟自由基能力, 有利于了解六堡茶的抗氧化功效.

三者清除羟自由基的能力如图5. 由图5可见, 随着茶叶提取物浓度或茶褐素浓度的提高, 溶液的清除羟自由基能力提高, 清除率增大, 当三者的质量浓度达到 1.5 mg/mL 时, 羟自由基的清除率都可以达到 100%. 在低浓度下, 三者清除自由基的能力有较大差异. 其中从六堡茶分离的茶褐素的羟自由基清除率最大, 其次为六堡茶提取物, 而毛茶提取物最低. 当浓度为 0.75 mg/mL 时, 三者的差异最大. 茶褐素的羟自由基清除率达到 78.23%, 而毛茶提取物的羟自由基清除率仅为 33.05%, 六堡茶提取的羟自由基清除率居中, 为 53.05%. 由此可见, 六堡茶尽管酚类含量下降, 但其羟自由基清除率却上升; 而六堡茶提取物的羟自由基清除率却比其茶褐素低. 说明六堡茶经过发酵工艺和后陈化后, 不仅口感柔和、味道甘醇, 且其抗氧化活性更高.

图5 茶叶提取物及茶褐素清除羟自由基比较
Fig.5 Comparison on scavenging OH· radicals ability of different tea extracts

3 结 论

大叶毛茶经过渥堆发酵及后期陈化压制后形成六堡茶. 六堡茶的各种水溶性成分及含量与其毛茶有显著的差异, 其中除游离氨基酸、可溶性糖外, 六堡茶的总酚、总黄酮、游离儿茶素、咖啡因含量均比

毛茶偏低. 不同企业提供的六堡茶样品, 其水溶性成分也略有差异. 但从茶的风味品质上看, 由于苦涩味物质——茶多酚、游离儿茶素、黄酮、咖啡碱减少, 茶汤变得较柔和、滋味更甘醇. 另外, 从生理功效方面看, 由于六堡茶中的 EGCG 及 ECG 含量增加, 部分茶多酚氧化转变为茶褐素, 而使六堡茶的抗氧化活性更强. 由此可见, 与毛胚茶相比, 六堡茶不愧是一种低刺激的健康饮品.

参考文献:

- [1] 杨锦泉. 广西特产——六堡茶[J]. 茶业通报, 1999, 21(4): 31.
- [2] 陈小强, 叶阳, 成浩, 等. 六堡茶的理化分析研究[J]. 中国农学通报, 2008, 24(7): 77-80.
- [3] 李大祥, 宛晓春, 夏涛. 茶色素的制备和化学成分分析[J]. 卫生研究, 2004, 33(6): 698-699.
- [4] 王坤波, 刘仲华, 黄建安. 茶黄素的提取分离与纯化研究进展[J]. 湖南农业大学学报, 2002, 28(4): 355-358.
- [5] 刘飞, 高志贤, 刘中文, 等. 分光光度法测定保健果茶中总黄酮[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(1): 118-119.
- [6] 吴谋成. 食品分析与感官评定[M]. 北京: 中国农业

出版社, 2002: 1-333.

- [7] 刘小玲, 林莹, 尹秀华, 等. 罗非鱼皮胶原肽的制备及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(3): 92-95.
- [8] 周红杰, 李家华, 甘月明, 等. 普洱茶渥堆发酵过程中化学成分变化与品质形成的关系[J]. 茶苑, 2004(1): 6-8.
- [9] 梁名志, 夏丽飞, 陈林波, 等. 普洱茶渥堆发酵过程中理化指标的变化研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22(10): 321-326.
- [10] 郭刚军, 龚加顺, 张新富, 等. 云南普洱茶中黄酮含量的测定及槲皮素、芦丁的提取分离[J]. 食品工业科技, 2007(8): 67-69.
- [11] 黄建琴. 氨基酸在茶叶制造中的转化机理及对茶叶品质的影响[J]. 氨基酸杂志, 1992(2): 26-29.
- [12] 吴桢. 普洱茶渥堆发酵过程中主要生化成分的变化[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
- [13] 阮宇成. 茶叶咖啡碱与人体健康[J]. 茶叶通讯, 1997(1): 3-4.
- [14] 杨晓萍, 郭大勇, 袁芳亭. 茶色素的研究现状与应用[J]. 茶叶机械杂志, 2002(4): 1-3.
- [15] 高林瑞. 普洱茶茶色素研究进展[J]. 热带农业科技, 2005, 28(3): 35-37.

Analysis on Feature Composition of Guangxi Liubao Tea

LIU Xiao-ling¹, LI Ying^{1,2}, JIANG Yuan-xin¹, YU Xiang¹

(1. College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China;

2. Institute of Liuzhou Product Quality Supervision and Inspection, Liuzhou 545006, China)

Abstract: In order to provide a scientific reference for evaluation of the Liubao tea quality, main feature composition of seven Liubao tea and its original green tea produced from Guangxi Wuzhou region were analyzed in this paper. The results showed that the characteristic ingredients in Liubao tea were significant different compared with its original green tea. After piled fermentation of green tea, its total phenol content significantly decreased, total flavonoids slight decreased, catechins and caffeine content decreased, total soluble sugar and total free amino acid content increased and theabrownins highly formed. These components changes in Liubao tea made its color red, taste sweet and come up with a better mouth feeling. Hydroxyl radical scavenging experiments showed that Liubao tea exhibited a much stronger antioxidant capacity than its original green tea because of the higher theabrownins content in Liubao tea.

Key words: liubao tea; characteristic composition; theabrownins; antioxidant capacity

(责任编辑: 檀彩莲)