



刘婷婷,齐桂年,邹 瑶,等.四川黑茶渥堆过程中主要品质成分及酶类活性变化[J].华南农业大学学报,2015,36(4):112-116.

四川黑茶渥堆过程中主要品质成分及酶类活性变化

刘婷婷, 齐桂年, 邹 瑶, 李 伟, 黄亚芳
(四川农业大学 园艺学院, 四川 雅安 625014)

摘要:【目的】探讨渥堆过程中四川黑茶品质成分及主要酶类活性的变化规律。【方法】采用国家标准测定方法和常用测定方法对四川黑茶渥堆过程中品质成分含量和酶类活性进行全程监测。【结果和结论】除咖啡碱含量变化不明显外,茶多酚、儿茶素、茶黄素、茶红素、茶褐素、纤维素、原果胶、蛋白质、氨基酸、水溶性果胶、可溶性糖含量均在渥堆工艺中下降,其含量降幅分别为 69.2%、43.7%、79.3%、81.7%、52.4%、9.6%、60.0%、62.3%、66.2%、32.2% 和 37.2%。多酚氧化酶、过氧化物酶活性分别在渥堆的第 19 和 12 天达到峰值,纤维素酶、果胶酶活性在渥堆的第 17 天达到峰值,相较于刚扎堆时,其酶活性分别提高了 246%、371%、371% 和 223%。四川黑茶渥堆过程中主要品质成分及酶类活性复杂的变化,促成了其相关品质特征的形成。

关键词:四川黑茶;渥堆;品质成分;酶活性
中图分类号:TS272 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2015)04-0112-05

Variations in quality ingredients and primary enzymes activities of Sichuan dark tea during post-fermentation

LIU Tingting, QI Guinian, ZOU Yao, LI Wei, HUANG Yafang
(College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract:【Objective】The purpose of this study was to investigate the changes in quality ingredients and primary enzyme activities of Sichuan dark tea during post-fermentation. 【Method】The quality ingredients and primary enzyme activities of Sichuan dark tea were monitored during the entire post-fermentation using national standard measuring methods and some common measuring methods. 【Result and conclusion】The results showed that except for caffeine, the contents of polyphenols, catechins, theaflavins, thearubigins, theabrowns, cellulase, pectin, protein, amino acid, soluble pectin, and soluble sugar declined by 69.2%, 43.7%, 79.3%, 81.7%, 52.4%, 9.6%, 60.0%, 62.3%, 66.2%, 32.2%, and 37.2%, respectively, in the process of post-fermentation. The activities of polyphenol oxidase, peroxidase, cellulase and pectinase increased to the maximum on the 19th, 12th, 17th and 17th day of post-fermentation process, respectively, and they increased by 246%, 371%, 371% and 223%, respectively, compared with the beginning of post-fermentation. The variation of the quality ingredients and primary enzymes of Sichuan dark tea during post-fermentation is complex, which contributes to the formation of quality characteristics of Sichuan dark tea.

Key words: Sichuan dark tea; post-fermentation; quality ingredient; enzyme activity

边疆少数民族同胞在日常生活中宁可三日无粮,不可一日无茶^[1],黑茶具有降脂减肥,消除油腻的功效^[2-5],可以消除少数民族因特殊饮食习惯带来的健康威胁.四川黑茶具有悠久的加工历史,其降脂、减肥功效已被科学试验证实^[6],其品质的高低直接影响着藏民的生活.

渥堆被认为是黑茶制作的关键工艺,实则为特殊的发酵过程,黑茶品质风格的形成依赖于此阶段茶叶中各种生化成分的转化^[7-8].对四川黑茶渥堆过程中主要品质成分及酶类活性变化的研究旨在进一步认识其品质风味形成的实质,同时探明此过程中主要酶类对品质成分转化的具体作用,对于改进四川黑茶的生产工艺,提高其品质,保证藏族人民的饮茶质量具有重要意义.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

四川黑茶样品,由四川雅安茶厂提供,其制茶原料为二级毛茶(条茶);电子天平 QUINTIX224-1CN,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司产品;电子恒温水浴锅 HH-S,郑州长城科工贸有限公司产品;紫外可见分光光度计 UV-2450PC,日本岛津公司产品.

1.2 试验方法

1.2.1 样品采集 在四川黑茶渥堆的不同时期(其中,渥堆第5天进行1翻,第13天进行2翻,第24天

出堆),采用5点取样法,取距堆表50 cm处的茶样,设3个重复,取样后立即用冰盒保存样品并带回实验室,供理化分析.所采样品位于的堆层的具体温、湿度条件:扎堆时该堆层茶坯温度高至85℃,相对湿度高达100%,茶叶含水量高达37%.渥堆期间该堆层的温度始终保持在45~71℃,茶叶含水量(w)保持在15%~35%.

1.2.2 相关理化指标测定 水分含量、咖啡碱及茶多酚含量测定采用国标法^[9-11].儿茶素、茶黄素、茶红素、茶褐素、蛋白质、氨基酸含量测定按黄意欢^[12]方法进行.可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[13].纤维素、原果胶、水溶性果胶含量测定按钟梦^[14]方法进行.多酚氧化酶、纤维素酶和果胶酶活性测定按郝瑞雪等^[15]方法进行.过氧化物酶活性测定按齐兰兰^[16]方法进行.以上各酶活性测定时,将其在一定温度和pH条件下,单位时间内使底物转化为相应产物所需要的酶量定义为1个酶活性单位(U).

1.3 数据分析

试验数据采用 SPSS 19.0 软件进行统计与分析.

2 结果与分析

2.1 四川黑茶渥堆过程中茶多酚及其转化产物含量的变化

四川黑茶渥堆过程中茶多酚、儿茶素以及茶黄素、茶红素和茶褐素含量见图1,在整个渥堆过程中,

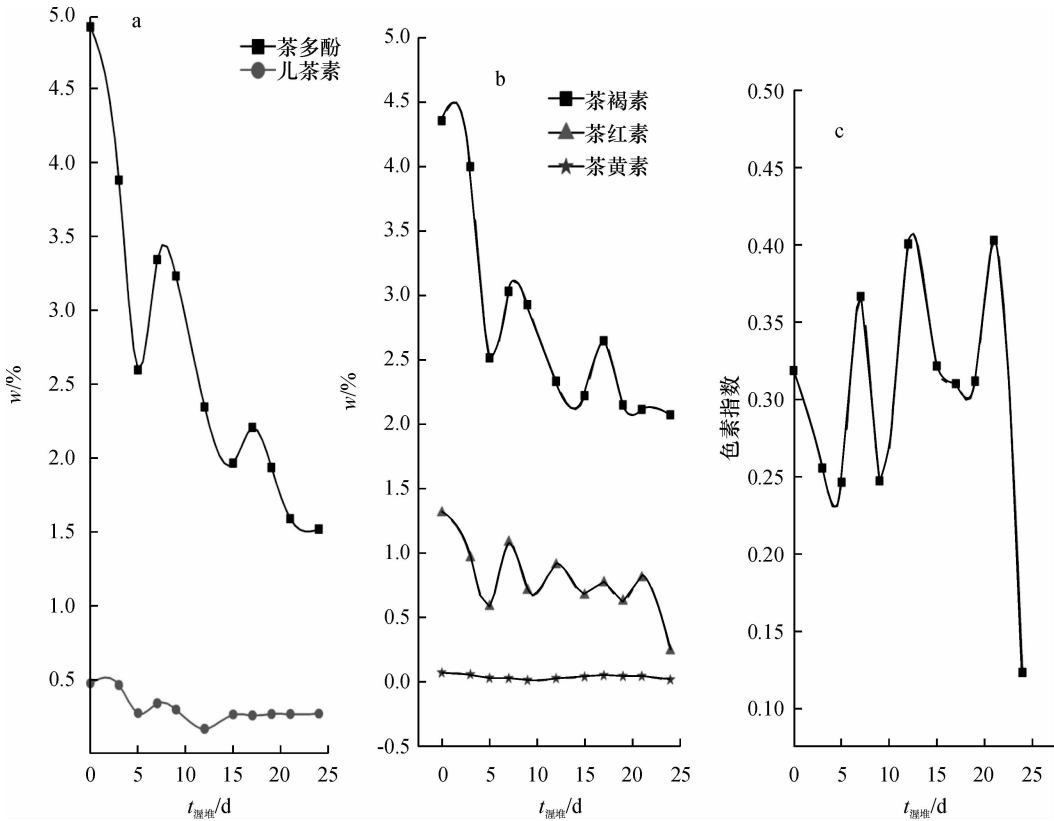


图1 四川黑茶渥堆过程中茶多酚及其转化产物含量的变化

Fig. 1 Variations in polyphenol and the transformation product contents of Sichuan dark tea during post-fermentation

茶多酚、儿茶素均总体呈现下降趋势,其中茶多酚下降趋势较为明显,其含量降幅达 69.2%,儿茶素则下降了 43.7%.由此可见,茶多酚含量的变化主要体现在儿茶素类物质含量的降低,这与齐桂年等^[17]相关研究结果一致.而茶多酚含量的降低则主要归因于渥堆过程中茶多酚的酶促和非酶促氧化、聚合及转化等系列反应^[18-20].值得注意的是,茶红素、茶褐素在整个渥堆工艺完成后并未得到积累,茶红素、茶褐素在渥堆过程中,因上一级多酚类物质氧化产物的转化,其含量在短期内有所增加,而后其又转化为下一级的氧化产物,其含量有所减少,出现时增时减的变化情况,到出堆时,相较于扎堆时其含量降幅分别达到了 81.7%和 52.4%,这与齐兰兰^[16]的研究结果不一致.茶黄素在渥堆 7 d 后虽有所积累,但在出堆时其含量降至整个渥堆过程的最低水平,其含量降幅为 79.3%.在黑茶渥堆过程中,部分多酚类物质主要是在多酚氧化酶的作用下氧化、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^[21].可见,茶黄素、茶红素在整个渥堆过程中含量的降低主要为茶褐素的形成提供了前提,而茶褐素并未得到积累的原因还有待深究.色素指数(即茶黄素含量和茶红素含量之和与茶褐素含量的比值)反应了茶汤的颜色和明亮度,当色素指数较大时,茶汤较红亮,反之,呈暗褐色.在整个渥堆过程中色素指数出现了比较大的几次波动,其变化规律与茶黄素、茶红素的变化呈现较大的一致性.在黑茶出堆时,色数指数降至整个渥堆过程的最低水平,其降幅为 61.3%,这些变化可能是四川黑茶除品种原因外汤色呈橙红色而非红褐色的

原因.

2.2 四川黑茶渥堆过程中咖啡碱、蛋白质、大分子糖类物质及其转化产物含量的变化

在整个渥堆过程中,咖啡碱含量变化不大,出堆时相较于扎堆时只下降了 3.13%,这与咖啡碱本身性质比较稳定有很大关系.纤维素、原果胶、蛋白质含量在扎堆时最高,在渥堆过程中呈下降趋势,至出堆时,其含量分别下降了 9.6%、60.0%和 62.3%.这与纤维素酶、果胶酶的酶促作用以及蛋白质的水解有着直接的关系^[22].可溶性糖也呈逐步下降的趋势,其含量降幅为 37.2%,水溶性果胶和游离氨基酸的含量在渥堆过程中由于果胶酶对原果胶的酶促水解及蛋白质水解而有所增加,而后又因微生物生长需对其加以利用等因素的影响,其含量有所减少,表现出时增时减的变化情况,至出堆时,其含量较扎堆时分别下降了 32.2%和 66.2%(图 2).由此可见,在渥堆过程中,大分子糖类物质和蛋白质的降解并没有使可溶性糖、水溶性果胶和游离氨基酸得到积累.可溶性糖、水溶性果胶没有得到积累的原因,可能为渥堆后期微生物大量繁殖,将其作为碳源的需求逐渐增加,而可被分解的碳水化合物逐渐减少,同时,由于可溶性糖还可与氨基酸产生孟拉德反应,因此,在渥堆后期可溶性糖和水溶性果胶含量逐渐减少^[23-24].在黑茶渥堆过程中的湿热环境下,微生物的作用使得蛋白质水解生成氨基酸,氨基酸进一步通过酶的作用脱羧、脱氨形成芳香物质,以及微生物将氨基酸作为其生长所需氮源而利用消耗^[25-26],这些都可能是四川黑茶渥堆过程中蛋白质含量减少而氨基酸未得到相应积累的原因.

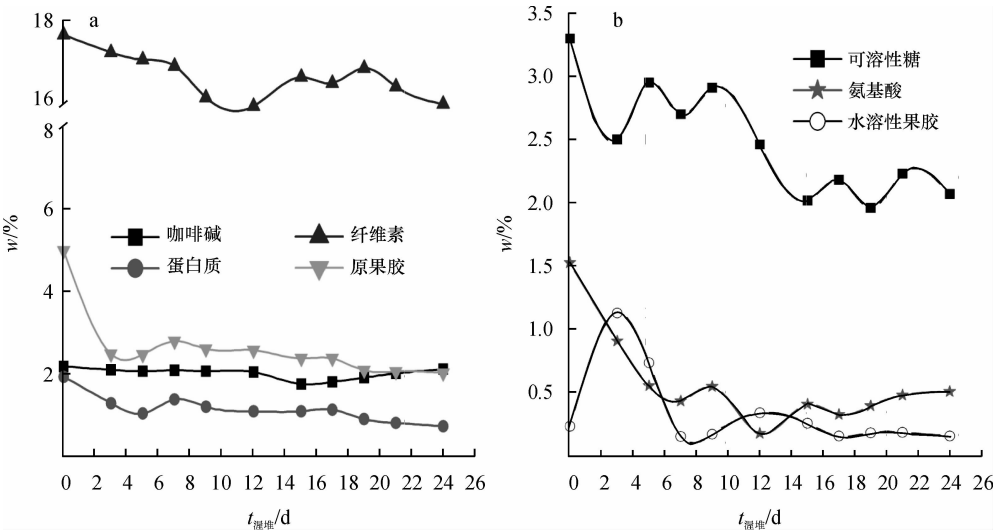


图 2 四川黑茶渥堆过程中咖啡碱、蛋白质、大分子糖类物质及其转化产物含量的变化

Fig. 2 Variations in caffeine, protein, macromolecular carbohydrates and their transformation product contents of Sichuan dark tea during post-fermentation

2.3 四川黑茶渥堆过程中主要氧化酶类和水解酶类活性的变化

本试验通过对四川黑茶渥堆工艺的全程跟踪,发现在堆心处的多酚氧化酶、过氧化物酶、纤维素酶和果胶酶活性随渥堆进程均出现了动态变化(图3)。多酚氧化酶活性在渥堆第19天达到峰值,与刚扎堆时的酶活性相比,增加了2.46倍,但出堆时降至整个渥堆过程的最低水平。过氧化物酶活性在渥堆2翻前(第12天)达到峰值,相较于刚扎堆时增加了3.71倍,在临近出堆时,该酶活性降至最低。据有关研究^[27]显示,渥堆过程中可能产生了与鲜叶中不同的多酚氧化酶同工酶,且该酶具有较高的活性,从而使多酚氧化酶表现出较大的活性变化,但在临

近渥堆结束时,由于渥堆温度的改变以及微生物活动使渥堆茶坯酸碱度发生变化,多酚氧化酶活性呈降低的趋势。本文中过氧化物酶活性的变化与黄建安等^[27]的研究结果有所差异,这可能是渥堆过程中微生物复杂的生理代谢活动所致。纤维素酶和果胶酶活性在渥堆的第17天达到峰值,分别比刚扎堆时增加了3.71和2.23倍,1翻后上述2种水解酶的活性一直呈现上升趋势,特别是在渥堆的后半阶段,其酶活性一直处于较高水平,直至21d时开始大幅下降,由图3b明显看出,这2种酶活性的变化呈双峰模式,这可能是由于微生物新陈代谢活动的周期性或微生物种群的更迭,从而导致了这2种酶活性的波动性变化,此研究结果与刘仲华等^[28]相关研究结果相符。

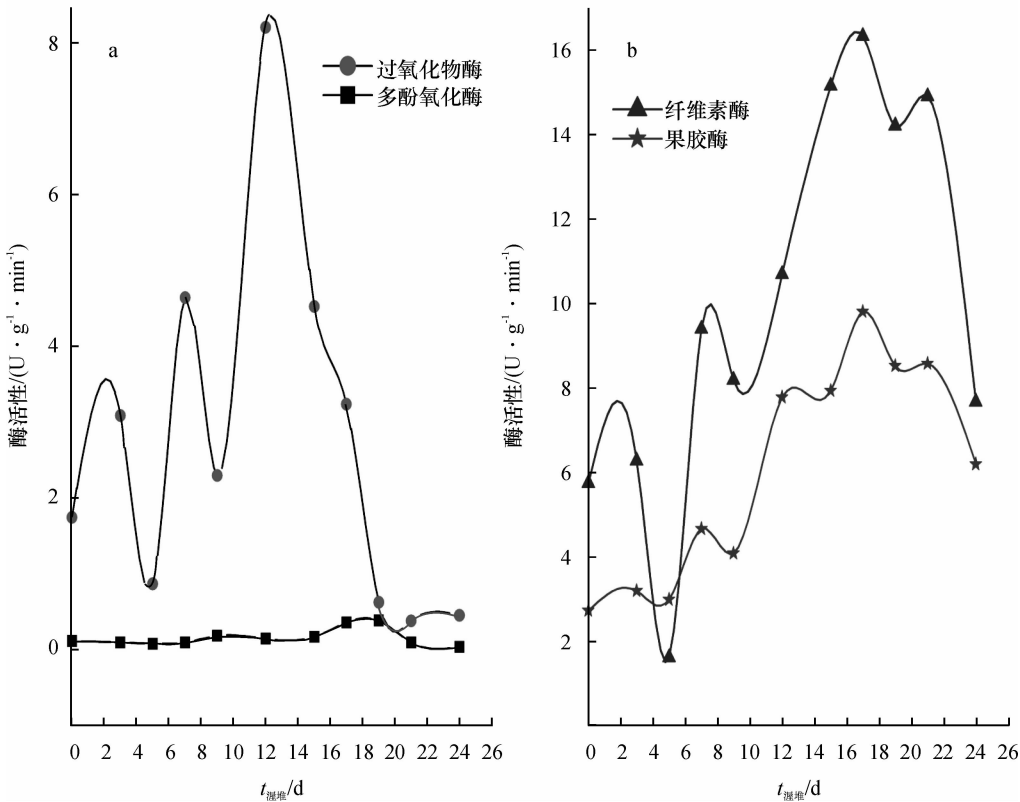


图3 四川黑茶渥堆过程中主要氧化酶类和水解酶类活性的变化

Fig.3 Variations in major oxidase and hydrolase activities of Sichuan dark tea during post-fermentation

3 讨论与结论

四川黑茶渥堆过程中,诸多品质成分发生了深刻的化学变化,其中,茶多酚和茶褐素含量变化最为明显,茶多酚含量在渥堆过程中显著下降,这对于减少茶汤苦涩味,形成四川黑茶滋味醇和等品质特征有重要的促进作用。茶黄素和茶红素含量在此过程中呈现下降的趋势,色素指数也是下降的,而茶褐素在渥堆完成后并没有积累增加,这与传统黑茶渥堆中茶黄素和茶红素含量减少而茶褐素含量增加有所

出入。虽然在渥堆进程中多酚氧化酶对茶多酚等多酚类物质产生催化作用,使其转化为相应产物,最终形成茶褐素,但渥堆中相关微生物的活动以及湿热环境等因素对茶褐素等物质的影响也不可忽视。茶褐素的主要组分是多酚类、多糖、蛋白质和核酸等^[29],在渥堆这一复杂环境中,这些组分也可能发生了重大的变化,从而导致茶褐素含量的减少。另有研究^[30]揭示,茶褐素的形成并不只是通过茶黄素和茶红素转化而来,还可能有多糖和蛋白质的参与,相关蛋白质和多糖含量的减少也会对其造成不利的影

响,但本研究中茶褐素含量减少的真正原因还有待深究。

大分子的纤维素、原果胶和蛋白质在渥堆过程中含量下降,但其相关产物可溶性糖、水溶性果胶和游离氨基酸的含量在渥堆完成后并没有积累增加。在渥堆开始时,茶叶中就存在氧化酶类和水解酶类的活性,随着渥堆进程的深入,这些酶类的活性也发生了较大的变化,尤其是纤维素酶和果胶酶,其活性整体呈上升的趋势,并处于较高水平。纤维素酶、果胶酶能分别将纤维素、原果胶这类大分子糖类物质降解为可溶性糖、水溶性果胶这类小分子物质,对黑茶“甘滑”、“厚重”的味感具有良好的促进作用^[31]。然而,可溶性糖、水溶性果胶以及游离氨基酸在渥堆完成后并未得到相应的积累,这是否与微生物将其用于自身生存以及相关生化转化有关尚待进一步研究、证实。黑茶渥堆是一个复杂的生化过程,相关动力的催化使得黑茶独有品质特征形成。由于本研究涉及内容有限,黑茶渥堆过程中其它相关因素对其品质形成的影响还有待进一步探明。

参考文献:

- [1] 边销茶项目课题组. 边销茶[M]. 北京:民族出版社, 2008.
- [2] LING T J, WAN X C, LING W W. New triterpenoids and other constituents from a special microbial-fermented tea: Fuzhuan brick tea[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(8): 4945-4950.
- [3] KUO K L, WENG M S, CHANG C T, et al. Comparative studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of oolong, black, Pu-erh, and green tea leaves in rats[J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(2): 480-489.
- [4] FU D H, RYAN E P, HUANG J N, et al. Fermented *Camellia sinensis*, Fuzhuan tea, regulates hyperlipidemia and transcription factors involved in lipid catabolism[J]. Food Res Int, 2011, 44(9): 2999-3005.
- [5] 陈昌辉, 郭金龙, 汪艳霞, 等. 雅安藏茶制作工艺的品质变化[J]. 林产化学与工业, 2011, 3(4): 69-74.
- [6] 徐甜. 四川边茶茶褐素优化提取及降脂活性研究[D]. 雅安:四川农业大学, 2010.
- [7] 邹瑶, 齐桂年. 四川黑茶的研究进展及展望[C]//中国科学技术学会. 第15届中国科协年会第20分会场: 科技创新与茶产业发展论坛论文集. 贵阳:中国科学技术协会, 2013: 63.
- [8] 陈应娟. 四川黑茶品质形成研究[D]. 雅安:四川农业大学, 2011.
- [9] 中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院. GB/T8304-2013 茶:水分的测定[S]. 北京:中国标准出版社, 2013.
- [10] 中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院. GB/T8312-2013 茶:咖啡碱的测定[S]. 北京:中国标准出版社, 2013.
- [11] 中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院. GB/T 8313-2008 茶:茶多酚的测定[S]. 北京:中国标准出版社, 2008.
- [12] 黄意欢. 茶学实验技术[M]. 北京:中国农业出版社, 1995.
- [13] 阮宇成, 李名君. 茶树生理及茶叶生化实验手册[M]. 北京:农业出版社, 1983: 12.
- [14] 钟蓼. 茶树品质理化分析[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1989: 12.
- [15] 郝瑞雪, 杜丽平, 徐瑞雪, 等. 普洱茶发酵过程中酶活性与主要品质成分关系初探[J]. 食品工业科技, 2012, 33(11): 59-62.
- [16] 齐兰兰. 康砖茶渥堆中酶活性变化及其对品质成分的影响[D]. 雅安:四川农业大学, 2011.
- [17] 齐桂年, 田鸿, 刘爱玲, 等. 四川黑茶品质化学成分的研究[J]. 茶叶科学, 2004, 24(4): 266-269.
- [18] 屠幼英, 梁慧玲, 陈暄, 等. 紧压茶儿茶素和有机酸的组成分析[J]. 茶叶, 2002, 28(1): 22-24.
- [19] 王柏臣, 刘波. 可溶性壳聚糖对纤维素酶的抑制作用[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2002, 19(2): 106-108.
- [20] 施兆鹏. 茶叶加工学[M]. 北京:中国农业出版社, 1997.
- [21] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 3版. 北京:中国农业出版社, 2008: 181-189.
- [22] 陈应娟, 齐桂年, 陈盛相, 等. 四川黑茶加工过程中感官品质和化学成分的变化[J]. 食品科学, 2012, 33(23): 55-59.
- [23] 朱先明, 施兆鹏, 曾汉轩, 等. 黑茶初制过程中主要生化成分变化的研究[J]. 园艺学报, 1963, 8(1): 75-82.
- [24] 温琼英, 刘素纯. 黑茶渥堆过程中微生物种群的变化[J]. 茶叶科学, 1991, 11(增刊): 10-16.
- [25] 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(1): 26-29.
- [26] 苏小明, 齐桂年. 康砖茶主要工序的成分变化[J]. 贵州茶叶, 2004(1): 12-14.
- [27] 黄建安, 刘仲华, 施兆鹏. 获砖茶制造中主要酶类的变化[J]. 茶叶科学, 1991, 11(增刊): 63-68.
- [28] 刘仲华, 黄建安, 施兆鹏. 黑茶初制中的主要酶类变化[J]. 茶叶科学, 1991, 11(增刊): 17-22.
- [29] 陈宗道. 茶叶化学工程学[M]. 重庆:西南师范大学出版社, 1999.
- [30] 谭超, 龚加顺, 保丽萍. “紫娟”绿茶发酵过程中茶褐素理化性质及微生物变化[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(12): 43-48.
- [31] 罗龙新, 吴小崇, 邓余良, 等. 云南普洱茶渥堆过程中生化成分的变化及其与品质形成的关系[J]. 茶叶科学, 1998, 18(1): 153-160.

【责任编辑 李晓卉】