

普洱茶渥堆过程中茶多糖及果胶变化研究

赵雪丰, 彭传燚, 谷勋刚*, 宛晓春

(安徽农业大学农业部茶叶生物化学与生物技术重点实验室, 合肥 230036)

摘要: 采用常规的方法, 以普洱茶生产车间渥堆样品为研究材料, 考察了普洱茶渥堆过程中茶多糖和果胶含量变化规律。结果显示, 随着渥堆时间的延长, 茶多糖和水溶性果胶含量总体上不断增加, 但四翻以后水溶性果胶有降低的趋势, 起堆样品与四翻样品中含量基本持平。渥堆结束的起堆样品, 其茶多糖和水溶性果胶总量接近最大值, 这些水溶性成分可能是形成普洱茶特殊风味的重要物质成分, 并具有潜在的保健功效。原果胶变化规律性不强, 渥堆前期其含量降低, 后期则增加, 推测可能与水溶性果胶重新聚合有关。同时对比考察了几种典型茶类中茶多糖和果胶的含量, 发酵茶中茶多糖和水溶性果胶的含量较高, 微生物对水溶性物质的形成具有推动力。非发酵茶和半发酵茶中二者的含量较低, 它们不是这些茶类的品质成分。

关键词: 普洱茶; 渥堆; 茶多糖; 果胶

中图分类号: TS272.54

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2012)04-0580-05

Changes of tea polysaccharide and pectin during fermentation process of Pu-erh tea

ZHAO Xue-feng, PENG Chuan-yi, GU Xun-gang, WAN Xiao-chun

(Key Lab of Tea Biochemistry & Biotechnology, Ministry of Agriculture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: The conventional methods were employed to investigate the change rules of tea polysaccharides and pectin contents in the pile-fermentation of Pu-erh tea samples collected from production workshop. The results indicated that the total contents of tea polysaccharide and water-soluble pectin were gradually increased with prolonging of the pile-fermentation time in the sample, however, the water-soluble pectin in the fourth pile-fermentation sample trended to decrease until to the end of pile-fermentation process, which almost kept at the same level. Both of tea polysaccharide and water-soluble pectin contents at end-fermentation sample were closed to the maximum value, which were probably the important components to form the special taste of Pu-erh tea, and had a potential health protection function. The change of the protopectin was not regular, which trended to decrease in the beginning of pile-fermentation process, and to increase at the end of fermentation step, which was suggested to be correlated with polymerization of water-soluble pectin. We also investigated the contents of the polysaccharide and pectin in several typical tea species. Generally, the contents of tea polysaccharide and water-soluble pectin in the fermentative tea samples were much high, which maybe due to microbe' degradation in transforming some matrices into water-soluble components. The contents in non-fermentative and semi-fermentative tea samples were very low, which did not affect the quality of the corresponding tea because of different special taste.

Key words: Pu-erh tea; pile-fermentation; tea polysaccharide; pectin

普洱茶属于发酵茶类, 以大叶茶为原材料经过复杂的渥堆阶段, 起堆后压制而成。渥堆过程是形成普洱茶特有风味关键环节, 内容物质丰富的原料

茶产生了复杂的生理生化反应^[1], 形成一系列水溶性的化合物, 改变并影响普洱茶茶汤的口感与滋味。茶多糖和果胶是影响茶汤口感和滋味的重要组成成分

收稿日期: 2012-04-09

基金项目: 全国茶叶产业技术体系项目和国家支撑项目(2007BAD58B04)共同资助。

作者简介: 赵雪丰, 女, 硕士研究生。

* 通讯作者: 谷勋刚, 男, 博士, 副教授。E-mail: xggu89@ahau.edu.cn

分, 渥堆过程中由多糖复合物、原果胶等在微生物的参与下逐渐产生^[2]。茶多糖具有多种保健功效, 如降血糖、降血脂、增强免疫力等^[3-4]; 果胶增加茶汤浓稠度并增加滑口甘醇感^[5], 具有降低血液中胆固醇的作用^[6]。因此研究普洱茶渥堆发酵过程中多糖和果胶含量的变化对改善普洱茶品质具有重要意义。基于此, 作者在普洱茶生产基地现场取样, 研究茶多糖及果胶含量变化规律, 分析相关影响因素, 并与绿茶、红茶及乌龙茶中的差异性进行对比研究, 为改善普洱茶品质提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

普洱茶渥堆样品取自云南勐海茶厂, 相同渥堆样品中每周取样 1 次, 共取 8 批样品。普洱茶渥堆过程的堆温为 $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$, 水分含量 $40\% \pm 2\%$ 。样品取出后在 40°C 烘箱中迅速烘干密封保存, 粉碎后过 30~60 目筛备用。对比试验的普洱生茶和普洱熟茶也取自云南勐海茶厂仓库, 但黄山毛峰、铁观音和祁门红茶均随机购于合肥市商场, 样品均经过了烘干、粉碎过 30~60 目筛处理。

1.2 试剂

萘酮、浓硫酸、95% 乙醇、无水乙醇、丙酮、无水乙醚、无水氯化钙、氢氧化钠、柠檬酸三铵、浓盐酸、乙酸等, 均为国产分析纯试剂。

1.3 仪器

万分之一电子天平, Toledo PL403 型, 德国 Mettler 公司; 电热恒温水浴锅, HWS-26, 上海一恒科学仪器有限公司; SHB-3 型循环水式多用真空泵, 上海新诺仪器厂; EYELA CCA-1110 小型冷却水循环装置, 东莞万华仪器公司; UV1600 紫外/可见分光光度计, 上海美谱达科学仪器有限公司; VacuCell 真空干燥箱, 德国 MMM 公司; 5804/5804R 台式高速大容量离心机, 德国 Eppendorf 公司; KQ250DE 超声波清洗机, 昆山市超声仪器公司。

1.4 分析方法

1.4.1 茶多糖 称取已干燥的普洱茶粉末 2.000 g, 加入 15 mL 超纯水后超声加热提取, 重复提取 1 次, 合并 2 次的提取液, 在水提液中加入无水乙醇, 使乙醇浓度达 80%, 于 4°C 冰箱中过夜醇沉, 醇沉后离心分离 ($5\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 20 min), 沉淀物依次用无水乙醇、丙酮、乙醚各洗 2 次, 沉淀物干燥后, 用萘酮-硫酸法测定茶多糖的含量^[4,7]。

1.4.2 果胶 水溶性果胶。称取已干燥的普洱茶粉末 2.000 g, 加入 30 mL 水, 在 80°C 温度下超声提

取 1 h, 溶剂和残渣全部转入过滤器内, 抽滤后将提取液定容至 50 mL, 同时保留滤渣。取滤液 5 mL, 加 95% 乙醇沉淀、离心, 弃去溶液, 用 NaOH 溶液溶解沉淀, 静置 1 h, 加入 $1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸静置 5 min, 加入 $1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 静置 1 h, 放入 100°C 沸水浴沸腾 5 min, 用 105°C 烘干的定量滤纸过滤, 热水洗涤沉淀, 将沉淀于 105°C 烘干至恒重, 称量并计算水溶性果胶的含量^[8]。

原果胶。将水溶性果胶提取试验中的滤渣加入 $0.3\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl, 沸水浴加热提取 30 min, 抽滤、热水洗涤, 滤液转入 100 mL 容量瓶内, 滤渣加入 10% 柠檬酸铵溶液, 继续用沸水浴加热提取 30 min, 抽滤、热水洗涤沉淀, 滤液合并至 100 mL 容量瓶内并定容。取该滤液 5 mL, 加入 95% 乙醇沉淀、离心, 用 NaOH 溶解沉淀, 静置 1 h, 加入 $1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸静置 5 min, 加入 $1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 静置 1 h, 放入 100°C 沸水浴沸腾 5 min, 用 105°C 烘干的定量滤纸过滤, 热水洗涤沉淀, 将沉淀于 105°C 烘干至恒重, 称量并计算原果胶的含量。

2 结果与分析

2.1 普洱茶渥堆阶段茶多糖变化研究

2.1.1 茶多糖提取条件的优化 茶多糖热稳定性较差, 高温时分解的速度加快^[2,7], 提取温度、时间及料液比对测定结果的准确度影响很大, 普洱茶多糖的提取研究较少, 因此试验首先对茶多糖提取条件进行了优化。参考其它基质提取的条件^[9], 本试验拟定提取温度为 60°C 和 70°C , 时间为 40 min、50 min 和 60 min, 料液比分别为 1:15、1:20、1:25 和 1:30, 在此基础上进行优化, 试验结果见图 1 和图 2。

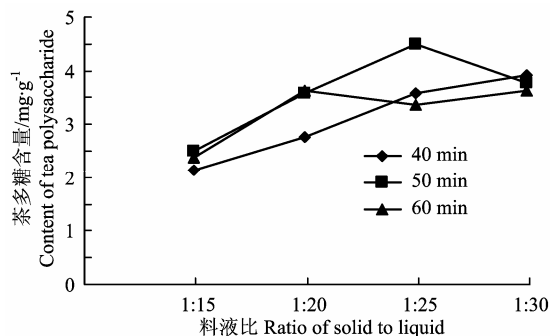


图 1 60°C 条件下的茶多糖含量

Figure 1 The content of tea polysaccharide extracted at 60°C

以 60°C 的温度提取, 最佳的料水比为 1:25, 最佳浸提时间为 50 min, 此时测得的茶多糖含量为 $4.5\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 在 70°C 时, 最佳的料水比为 1:30, 最佳浸

提时间为 60 min, 此时测得的茶多糖含量为 $4.23 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。温度对果胶的提取效率有一定的影响, 温度过高, 部分果胶趋向于分解。因此针对普洱茶多糖的提取, 选择温度为 60°C , 浸提时间为 50 min, 料液比为 1:25。

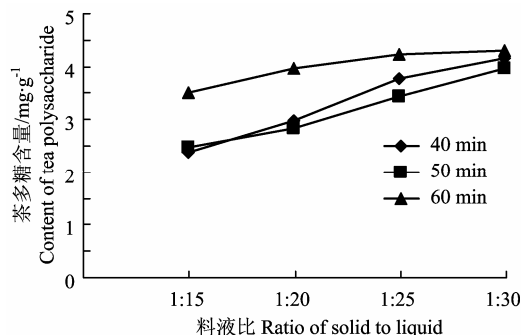


图 2 70°C 条件下的茶多糖含量

Figure 2 The contents of tea polysaccharide extracted at 70°C

2.1.2 渥堆样品中茶多糖含量变化 采用上述处理

表 1 渥堆样品中茶多糖含量

Table 1 The contents of tea polysaccharide in fermentative samples $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

毛茶 Raw tea	一翻 1 st pile- fermentation	二翻 2 nd pile- fermentation	三翻 3 rd pile- fermentation	四翻 4 th pile- fermentation	五翻 5 th pile- fermentation	六翻 6 th pile- fermentation	起堆 End of fermentation
2.22±0.08	3.17±0.20	4.46±0.26	8.51±0.19	10.7±0.1	16.1±0.3	18.9±0.3	14.7±0.2

表 2 渥堆样品中果胶含量

Table 2 The contents of pectin in fermentative samples $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$

样品 Sample	水溶性果胶 Water-soluble pectin	标准偏差 SD	原果胶 Protopectin	标准偏差 SD
毛茶 Raw tea	19.0	0.2	74.1	0.6
一翻 1 st pile-fermentation	46.1	0.3	71.7	0.3
二翻 2 nd pile-fermentation	98.1	0.2	54.1	0.1
三翻 3 rd pile-fermentation	109.2	0.3	46.1	0.4
四翻 4 th pile-fermentation	131.1	0.6	80.7	0.4
五翻 5 th pile-fermentation	79.2	0.4	35.8	0.3
六翻 6 th pile-fermentation	129.1	0.4	35.1	0.2
起堆 End of fermentation	138.6	0.2	91.5	0.2

2.2 普洱茶渥堆阶段果胶变化研究

果胶可增加普洱茶茶汤的厚度并具有保健功效^[5-6], 其含量的变化影响普洱茶的品质。本试验同时对渥堆样品中的可溶性果胶和原果胶进行了调查, 结果见表 2。

表 2 显示, 随渥堆时间延长, 可溶性果胶总体上呈增加的趋势, 但在第 5 次翻堆和第 6 次翻堆过程中有降低的趋势, 已有的调查也呈现这种变化规律^[11]。原果胶变化规律性不明显。笔者认为, 可溶

方法, 分析了 8 个渥堆样品, 结果见表 1。普洱茶原料晒青毛茶中茶多糖的含量很低, 主要以多糖复合物的形式存在^[2], 水溶性较差, 对普洱茶的保健功效没有贡献。随着渥堆发酵时间的延长, 由第 1 次翻堆至第 6 次翻堆的样品中茶多糖的含量逐渐增加, 一方面表明普洱茶原料中茶多糖的“前体物”比较丰富, 充分提供了形成茶多糖的物质基础; 另一方面表明渥堆发酵过程中曲霉等菌属活动比较旺盛^[1,10], 在适宜的水热条件下参与了高分子有机物的分解。二者结合, 促进了茶多糖的形成, 提高了茶汤中茶多糖的含量, 改善了普洱茶的口感。

普洱茶固态发酵的优势微生物曲霉在分解大分子化合物的同时^[1], 酵母菌也在活动, 消耗相应的碳源物质。至起堆时, 茶多糖含量反而降低, 可能是酵母菌等消耗多糖的量大于曲霉分解产生多糖的量, 致使起堆时茶多糖含量降低。从这个角度来考虑, 少翻堆 1 次似乎更理想, 普洱茶成品中茶多糖的量更丰富。

性果胶在渥堆湿热条件下, 主要来自多聚半乳糖醛酸和聚半乳糖醛酸的水解、皂化反应的结果, 使由毛茶到四翻过程中水溶性果胶的含量不断升高。原果胶虽然在果胶酶的作用下能够被分解并进一步形成水溶性果胶, 但在渥堆过程中贡献总量不大, 因为原果胶含量变化不明显。普洱茶渥堆初期, 原果胶之间或原果胶与半纤维素之间结合的较紧, 果胶酶活性受到渥堆条件的限制或分解的时间不充分, 分解总量较少。至起堆后, 原果胶含量升高, 可能

与温度的改变以及含水量下降, 导致聚半乳糖醛酸等与半纤维素重新聚合。一般茶多糖的含量增长也可能导致可溶性果胶的增多^[12]。由表 1 与表 2 可见, 普洱茶经过渥堆发酵后, 茶多糖和水溶性果胶的总量明显提高, 增加了茶汤的浓稠性, 改善了普洱茶的滑口感。

2.3 5 种不同茶类中茶多糖含量比较

为了探讨普洱茶特有风味的物质组成, 本试验同时对几种典型茶类中茶多糖也进行了研究, 对比分析结果见表 3。

祁门红茶是以小叶种茶为原材料的完全发酵茶, 茶多糖的含量达到了每 kg 干茶 8.65 g 的水平, 而黄山毛峰中茶多糖的含量仅为每 kg 干茶 5.59 g, 尽管后者的原料是黄山大叶种茶叶, 一般认为大叶种茶叶的内容物质高于小叶种^[13]。针对这种结果,

我们认为发酵过程有助于茶叶中不溶性的碳水化合物及结合态的糖转化为茶多糖, 微生物起着重要作用。

铁观音为半发酵茶, 茶多糖的含量与绿茶基本上处于同一水平。普洱生茶多糖的含量与晒青毛茶接近。普洱熟茶与祁门红茶均为发酵茶, 但前者中茶多糖的含量较高, 除与发酵工艺有关外, 品种不同可能是更重要的影响因素。因为普洱茶的原材料为云南大叶种茶, 进一步证实大叶种内容物质更丰富。

2.4 5 种不同茶类中果胶含量比较

由于果胶能增加茶汤的浓稠度^[5], 在考察普洱茶果胶含量的同时, 也对比分析了几种典型茶类中果胶的含量, 结果如表 4。

表 3 不同类型茶样的茶多糖含量

Table 3 The contents of tea polysaccharide in different type of teas

样品 Sample	茶多糖含量/mg·g ⁻¹ Tea polysaccharide	标准偏差 Standard deviation
祁门红茶 Keemun black tea	8.65	0.3
黄山毛峰 Huangshan Maofeng tea	5.59	0.2
铁观音 Tie Guanyin	5.05	0.1
普洱生茶 Pu-erh raw tea	1.39	0.1
普洱熟茶 Pu-erh ripe tea	14.7	0.2

表 4 不同类型茶样的果胶含量

Table 4 The contents of pectin in different type of teas

样品 Sample	水溶性果胶 Water soluble pectin	标准偏差 SD	g·kg ⁻¹	
			原果胶 Protopectin	标准偏差 SD
祁门红茶 Keemun black tea	113.9	0.1	61.6	0.6
黄山毛峰 Huangshan Maofeng tea	60.0	0.3	89.3	0.5
铁观音 Tie Guanyin	69.3	0.2	80.0	0.3
普洱生茶 Pu-erh raw tea	27.7	0.1	58.4	0.2
普洱熟茶 Pu-erh ripe tea	138.6	0.2	91.5	0.2

表 4 显示, 发酵茶如祁门红茶和普洱熟茶中可溶性果胶含量均较高, 每 kg 干茶分别为 113.9 g 和 138.6 g, 含量的差别主要受茶叶原料的影响。黄山毛峰和铁观音水溶性果胶含量低于发酵茶, 但高于普洱生茶, 再结合茶多糖含量的不同, 认为水溶性果胶和茶多糖是影响茶汤浓稠度的重要因素。事实上茶汤浓稠度高低并非构成黄山毛峰、铁观音及普洱生茶的品质属性, 而对普洱熟茶, 浓稠度影响了茶汤的滑口感, 是形成普洱茶风味的一部分。浓稠度对红茶风味的形成影响较小, 但本试验结果显示祁门红茶中果胶和茶多糖的含量较高, 高于绿茶和乌龙茶, 是否与红茶具有保健功效有关有待进一步

考察。原果胶在茶汤中溶解度较小, 很少能进入茶汤内, 但含量的高低一定程度上反映了形成可溶性果胶的潜力的大小, 或者水溶性果胶重新聚合成难溶性化合物总量的多少。表 4 的数据显示, 黄山毛峰和铁观音中原果胶含量较高, 结合二者的加工工艺过程考察, 认为成茶中的原果胶主要来自原料中未分解部分, 这部分原果胶比普洱生茶中的含量还高, 是受制茶原料的影响还是杀青等加工过程的影响? 这些问题有待于进一步的研究。

3 结论

应用常规的方法, 研究了普洱茶渥堆过程中茶

多糖和果胶的变化。随着渥堆时间的延长,茶多糖和水溶性果胶含量基本上在不断增加,但四翻以后水溶性果胶有降低的趋势,起堆样品与四翻样品中含量基本持平。总体而言,起堆样品中茶多糖和水溶性果胶的总量接近最大值,这些水溶性成分是构成普洱茶风味的重要条件,并具有潜在的保健功效。原果胶变化规律性不强,在渥堆的前期部分趋于分解,但到起堆时水溶性的果胶可能又重新形成难溶性的原果胶。同时对比考察了几种典型茶类中茶多糖和果胶的含量,发酵茶中茶多糖和水溶性果胶的含量较高,发酵过程中微生物参与了水溶性物质的形成。非发酵茶和半发酵茶中二者的含量较低,对这些茶的品质没有影响。

参考文献:

- [1] 龚家顺,周红杰,张新福,等. 云南晒青绿毛茶的微生物固态发酵及成分变化研究[J]. 茶叶科学, 2005, 25(4): 300-306.
- [2] 汪东风,谢晓凤,王世林,等. 茶多糖的组分及理化性质[J]. 茶叶科学, 1996, 16(1): 1-8.
- [3] 清水岑夫. 探讨茶叶的降血糖作用以从茶叶中制取抗糖尿病的药物[J]. 国外农学-茶叶, 1987(3): 38-40.
- [4] 王元凤,金征宇. 茶叶中多糖的分离及降血糖活性的研究[J]. 中草药, 2005, 36(10): 1453-1457.
- [5] 傅博强,谢明勇,周鹏. 茶叶多糖的提取纯化、组成及药理作用研究进展[J]. 南昌大学学报, 2001, 25(4): 358-364.
- [6] 曹德菊,黄祥明,刘小刚. AAS 法间接测定植物果胶含量的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2000, 27(2): 202-203.
- [7] 傅博强,谢明勇,聂少平,等. 茶叶中多糖含量的测定[J]. 食品科学, 2001, 22 (11): 69-73.
- [8] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010: 326-329.
- [9] 鲁慧芳,丁长河,侯丽芬,等. 苹果渣中果胶提取条件及其分子量的测定研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(6): 154-157.
- [10] 何国林,林月婵,徐福祥. 广东普洱茶渥堆中细胞组织的显微变化及微生物分析[J]. 茶叶科学, 1987, 7(2): 54-57.
- [11] 周斌星,孔令波,李发志. 普洱茶(熟茶)发酵过程中不同堆层主要生化成分的变化[J]. 江西农业学报, 2010, 22(7): 63-68.
- [12] 季鹏章. 浅谈茶果胶质的研究[J]. 广东茶叶, 1999(增刊): 25; 35.
- [13] 谷勋刚,张正竹,宁井铭. 普洱茶渥堆样品及成茶中游离子态与酸解态香气香型变化研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(7): 96-99; 102.