

做青程度对信阳茶品质及其抗氧化活性的影响

姜业硕¹, 张曼², 胡娥³, 陈金利⁴, 徐文静¹, 梁丽云^{1*}

(1. 河南农业大学园艺学院, 河南郑州 450046) (2. 河南农业大学生命科学院, 河南郑州 450046)

(3. 新县云山茶场, 河南信阳 465500) (4. 信阳市十八口生态农业开发有限公司, 河南信阳 464142)

摘要: 该研究采用一芽三四叶的鲜叶原料, 比较了信阳绿茶、信阳红茶和 3 个不同做青程度的信阳茶的品质及其抗氧化活性, 以期对江北茶区小叶种茶树品种的鲜叶进一步开发利用提供理论依据。通过分光光度计、液相色谱和气相色谱-质谱联用仪检测 5 种茶主要生化成分和挥发性成分, 利用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl, DPPH) 法检测此 5 种茶的抗氧化活性, 最后进行感官审评。结果发现: 不同做青程度的信阳茶中所含主要成分的含量及组成存在差异, 随着做青程度加深, 茶多酚由 21.17% 降到 18.90% ($P<0.05$), 氨基酸由 3.43% 增加到 3.73% ($P<0.05$), 黄酮由 5.63 mg/g 增加到 6.55 mg/g ($P<0.05$), 香气成分呈递增的趋势, 尤其单帖类物质增加明显, 如 β -蒎烯由 0.13 $\mu\text{g/g}$ 增加到 0.37 $\mu\text{g/g}$ 、E- β -罗勒烯 0.05 $\mu\text{g/g}$ 增加到 0.15 $\mu\text{g/g}$ ($P<0.05$)。感官审评发现, 轻度做青处理所制的茶叶品质相对较优。通过计算不同做青处理所制茶叶清除 DPPH 自由基半抑制浓度 IC_{50} 值 (Half Maximal Inhibitory Concentration, IC_{50}), 发现随着做青程度加深, IC_{50} 值在增大, $1/\text{IC}_{50}$ 值与茶多酚含量呈极显著正相关 ($P<0.01$), 与氨基酸和黄酮含量呈极显著负相关 ($P<0.01$), 与 19 种挥发性成分呈显著负相关 ($P<0.05$), 说明适当的做青工艺可以改善一芽三四叶所制信阳绿茶的品质。

关键词: 做青; 信阳茶; 理化品质; 挥发性物质; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2023)11-205-214

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.11.1374

Effect of the Degree of Tossing on the Quality and Antioxidant Activity of Xinyang Tea

JIANG Yeshuo¹, ZHANG Man², HU E³, CHEN Jinli⁴, XU Wenjing¹, LIANG Liyun^{1*}

(1.College of Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China) (2.College of Life Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China) (3.Yunshan Tea Farm, Xinxian County, Xinyang 465500, China) (4.Xinyang Shibakou Ecological Agriculture Development Co. Ltd., Xinyang 464142, China)

Abstract: The quality and antioxidant activity of Xinyang green tea, Xinyang black tea, and Xinyang teas with different degrees of tossing were compared using the fresh leaf raw materials (one bud and three leaves or four leaves). This provides a theoretical basis for the further development and utilization of the fresh leaves of small-leaf tea varieties in the Jiangbei tea region. The main biochemical and volatile components of the five teas were examined by spectrophotometry, liquid chromatography and GC-MS. Their antioxidant activities were evaluated by the DPPH method, followed by sensory evaluation. The results showed that the contents and composition of the main components in the Xinyang teas with different degrees of tossing differed. As the degree of tossing increased, the content of tea polyphenols decreased from 21.17% to 18.90% ($P<0.05$), the content of amino acids increased from 3.43% to 3.73% ($P<0.05$), and the content of flavonoids increased from 5.63 mg/g to 6.55 mg/g ($P<0.05$). The aroma components showed a steady increase trend, in particular, the contents of monoterpenes increased significantly ($P<0.05$) e.g. β -pinene increased from 0.13 $\mu\text{g/g}$ to 0.37 $\mu\text{g/g}$, E- β -basilene increased from 0.05 $\mu\text{g/g}$ to 0.15 $\mu\text{g/g}$. Sensory

引文格式:

姜业硕,张曼,胡娥,等.做青程度对信阳茶品质及其抗氧化活性的影响[J].现代食品科技,2023,39(11):205-214

JIANG Yeshuo, ZHANG Man, HU E, et al. Effect of the degree of tossing on the quality and antioxidant activity of Xinyang tea [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(11): 205-214

收稿日期: 2022-10-29

基金项目: 横向豫新茶研制与开发项目 (30801981); 河南农业大学教改项目 (2021XJGX101); 社会服务科技特派员项目 (30802540)

作者简介: 姜业硕 (1997-), 女, 在读硕士, 研究生, 研究方向: 茶叶生物化学及茶的综合应用, E-mail: 1119213605@qq.com

通讯作者: 梁丽云 (1983-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 茶叶生物化学及茶的综合应用, E-mail: molixiang23@126.com

evaluation revealed that the quality of tea subjected to light tossing was better. The calculations of the IC_{50} values of DPPH radical scavenging revealed that with the rise of the degree of tossing, the IC_{50} value increased. The $1/IC_{50}$ value was significantly and positively correlated with the content of tea polyphenols ($P<0.01$). The $1/IC_{50}$ value was significantly and negatively correlated with the contents of amino acids and flavonoids ($P<0.01$), and significantly and negatively correlated with the contents of 19 volatile components ($P<0.05$). These results indicate that the quality of the Xinyang green tea made from one bud and three or four leaves can be improved by a proper tossing process.

Key words: tossing; Xinyang tea; physicochemical quality; volatile components; antioxidant

茶是一种重要的经济作物, 不仅有诱人的风味, 还富含多种活性成分, 是世界上最受欢迎的饮料之一^[1]。茶叶中的多酚类物质具有抗氧化活性, 可以预防体内产生过量的自由基^[2]。茶鲜叶中还含有丰富的糖苷类物质, 这些物质有的是香气物质的前体物质, 如樱草糖苷和葡萄糖苷类, 有的是滋味的前体物质, 如黄酮醇苷或黄酮苷类^[3], 而这些物质在茶叶不同加工中, 脱去糖基或被氧化, 在很大程度上影响干茶的品质^[4]。研究表明黄酮类物质有较高的药用价值, 可以调节人体免疫力和增强代谢等功效^[5]。成品茶中的各种化学成分的种类、比例和含量, 除了受茶树品种、季节和地理环境影响外, 加工技术是一个关键因素^[6]。近年来, 为全面提高茶资源的高效利用率, 从节能减排的角度出发, 结合夏茶鲜叶生长旺盛的特点, 再改进加工工艺以达到提质增效为目的^[7]。夏茶鲜叶中含有较多苦涩味重的茶多酚^[8]、咖啡碱和糖苷类^[9]等物质, 鲜醇味的氨基酸含量较低。因此, 夏季茶青生产的绿茶, 因没有杀青前对茶青的处理, 成品茶苦涩味较重, 香气低, 严重影响它的感官品质。段玲靓^[10]研究报道夏季采摘的3个品种的鲜叶制作绿茶, 前提是把乌龙茶制作中的摇青工艺加入此绿茶制作中, 这些茶青经过摇青处理后, 鸠坑品种制成的成品茶在香气和滋味上改善较大, 香气浓郁并呈花香, 滋味苦涩味降低, 橙花叔醇、法尼烯等香气含量和比例明显增高; 毛蟹品种茶样经摇青工序后, 乌龙茶的特征香气物质增加明显; 而福鼎品种则变化不大, 香气平平, 滋味略有改善。

传统的信阳毛尖一般被认为, 制作的茶青越嫩越好^[11]。一般越嫩的信阳毛尖茶中, 氨基酸含量高, 香气物质丰富, 茶多酚含量适中, 相对整体物质含量比较和谐, 做出的成品茶外形和滋味较容易被大众所接受^[12]。越嫩的鲜叶做出的信阳毛尖的外形比较紧细, 因为茶鲜叶越嫩, 含水量会越高, 木质化的程度就越低, 更容易造型, 更能做成人们心目中的细圆紧直多白毫的品质特点^[13]。因此, 一般在4月底做的信阳毛尖成品茶市场价格较低, 茶滋味通常较浓涩, 茶香气不足, 茶条索不太紧致。由于信阳毛尖绿茶这种要求较高的鲜叶标准, 致使信阳茶

区80%以上的比较成熟的鲜叶不能被利用, 尤其夏秋茶这个时段的鲜叶生长十分旺盛, 产量很大。为延长茶叶生产期, 增加成品茶产量, 本实验在加工上进行创新。到目前为止, 对来自信阳茶区, 以小叶种较成熟的鲜叶为原料, 加上做青工艺制作改良的信阳绿茶的品质和抗氧化的研究甚少。基于此, 本文选取夏初采制的鲜叶, 对较成熟的茶青, 加上了不同程度的做青工艺, 让茶叶中的一些物质发生适当转化, 减少苦涩感, 增加茶叶的香味和宜人特点; 另一方面, 也要控制发酵程度, 以防茶汤滋味太过平淡。为找出适当的做青程度, 获得最佳的口感滋味和香气, 开展此试验, 为进一步提升信阳茶区夏秋茶鲜叶的利用率提供一些理论依据。

1 材料与方法

1.1 茶样

选取信阳绿茶 G1、轻度做青 T2、中度做青 T3、重度做青 T4 和信阳红茶 B5 为研究茶样。T2、T3 和 T4 茶经过不同程度做青处理的改良信阳绿茶。做青的具体操作流程为: 鲜叶先摇青 5 min, 然后静置 3 min, 再次摇青 3 min, 然后再静置 30 min, 最后摇青 10 min, 这个过程被定义为一次做青。T2 经历 1 次做青, T3 经历 2 次做青, T4 经历了 3 次做青。然后进入绿茶加工的步骤, 杀青、揉捻和干燥加工过程。5 个茶样的鲜叶均来自信阳群体小叶种, 信阳茶区的同一个茶园, 鲜叶的采摘标准均为一芽三四叶, 均在夏初制作, 每个茶样具体的加工工序如表 1。

1.2 试剂与仪器

福林酚试剂(高纯级), 合肥博美生物科技有限公司; 没食子酸(含量>99%), 天津市光复精细化工研究所; 三氯化铝(分析纯), 郑州派尼化学试剂厂; 无水乙醇、甲醇(分析纯), 天津市富宇精细化工有限公司; 正己烷(色谱纯), 美国默克公司; 碱式乙酸铅(分析纯), 上海阿拉丁试剂有限公司; 茚三酮(分析纯), 上海麦克林生化科技有限公司; 氯化亚锡、无水碳酸钠(分析纯), 天津市永大化学试剂有限公司; 1,1-

二苯基苦基苯肼 (DPPH) (含量>97%), 梯希爱 (上海) 化成工业发展有限公司等。

7890B-7000D 气相色谱-质谱联用仪, 美国安捷伦公司; DB-5MS 毛细管柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm), Agilent; DFY-300 摇摆式高速万能粉碎机, 温岭市林大机械有限公司; FA1004A 电子分析天平 (感量 0.001 g), 上海佑科仪器仪表有限公司; DHG-2080B 鼓风电热恒

温干燥箱 (温度波动±1 ℃)、SSW-600-2S 电热恒温水浴槽 (温度波动±0.5 ℃), 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; SHB-3 循环水多用真空泵, 郑州杜甫仪器厂; UV Professional V1.30.0 紫外-可见分光光度计, 翱艺仪器有限公司; JW-1048 离心机, 安徽嘉文仪器装备有限公司。

表 1 茶样的加工工序

Table 1 The processing of tea samples

茶样编号	处理	加工工序
G1	信阳绿茶	鲜叶→杀青→揉捻→干燥
T2	轻度做青	鲜叶→做青(1)→杀青→揉捻→干燥
T3	中度做青	鲜叶→做青(1)→做青(2)→杀青→揉捻→干燥
T4	重度做青	鲜叶→做青(1)→做青(2)→做青(3)→杀青→揉捻→干燥
B5	信阳红 (对照)	鲜叶→揉捻→发酵→干燥

1.3 实验方法

1.3.1 生化成分测定和抗氧化测定

(1) 水浸出物测定参照 GB/T 8305-2013《茶叶水浸出物含量测定》; (2) 水分测定参照 GB 5009.3-2016《食品中水分的测定》; (3) 福林酚法测定茶多酚含量参照 GB/T 8313-2018《茶叶中茶多酚测定》; (4) 黄酮含量测定参照李远华^[14]的三氯化铝法。

(5) 游离氨基酸总量测定 GB/T 8314-2013《茶叶中游离氨基酸含量测定》; (6) 咖啡碱含量参照 GB/T 8312-2013《咖啡碱含量测定》中液相色谱法的测定;

(7) DPPH 抗氧化能力的测定参考张彧等^[15]的方法。水浸出物、茶多酚、氨基酸、咖啡碱和黄酮含量均按照目前最新国家标准测定, 含量均为干物质的含量。

1.3.2 茶香气成分的测定

(1) 茶样前处理: 从-80 ℃冰箱中取出样品进行液氮研磨, 涡旋混合均匀, 每个样本称取约 1 g (液体 1 mL) 于顶空瓶中; 分别加入饱和 NaCl 溶液, 和 10 μL (50 μg/mL) 内标溶液。全自动顶空固相微萃取 (Headspace Solid-Phase Micro-Extraction, HS-SPME) 进行样本萃取, 以供 (Gas Chromatograph-Mass Spectrometer, GC-MS) 分析。(2) 色谱条件: 载气为高纯氦气 (纯度不小于 99.999%), 恒流流速 1.2 mL/min, 进样口温度 250 ℃, 不分流进样, 溶剂延迟 3.5 min。程序升温: 40 ℃保持 3.5 min, 以 10 ℃/min 升至 100 ℃, 再以 7 ℃/min 升至 180 ℃, 最后以 25 ℃/min 升至 280 ℃, 保持 7 min。(3) 质谱条件: 电子轰击离子源 (EI), 离子源温度 230 ℃, 四级杆温度 150 ℃, 质谱接口温度 280 ℃, 电子能量 70 eV, 扫描方式为选择离子检测模式 (Selected Ion

Monitor, SIM), 定性定量离子精准扫描 (GB 23200.8-2016)。香气成分的数据仅供本文数据间对比, 与文献中发的文章的香气成分含量不能进行对比, 因为本文中用的香气成分含量用的是半定量方法进行定量的 (迈维检测公司)。

1.3.3 茶叶感官审评

由专业审评团队对各个茶样进行感官审评, 审评方法参照 GB/T 23776-2018《茶叶感官审评方法》, 茶样中信阳绿茶 G1、T2、T3 和 T4 茶按照绿茶审评方法进行, 红茶 B5 茶样按照红茶的审评方法进行。按照各茶样的干茶外形 (25%)、茶汤汤色 (10%)、茶底香气 (25%)、茶汤滋味 (30%)、茶叶叶底 (10%) 的打分标准对各茶样进行感官评定。

1.4 数据分析

每个茶样处理重复 3 次, 应用软件 SPSS Statistics 22 对数据进行单因素方差分析, 当 $P<0.05$ 进行邓肯式极差检验。对香气成分进行进行聚类分析, 正交偏最小二乘判别分析等。

2 结果与分析

2.1 不同做青程度所制茶叶中非挥发性物质含量比较分析

2.1.1 含水量和水浸出物

由表 2 可知, 5 种茶样中红茶含水量最低, 数值为 3.04%, 信阳绿茶 G1 的含水量为 4.95%。经过不同程度做青处理的 T2、T3 和 T4 茶含水量范围为 5.27%~5.85%, 比 G1 高, 且差异显著 ($P<0.05$); 做青处理

绿茶之间相比, $T4 > T3 > T2$, 且差异显著 ($P < 0.05$)。水浸出物是茶叶中能溶于茶汤中可溶性物质的总称, 是表征茶叶滋味成分总体水平的综合指标。茶中的水浸出物包括了茶多酚及其它的氧化产物 (茶黄素和茶红素等)、游离氨基酸、咖啡碱、可溶性有机酸、可溶性果胶物质、多种维生素、可溶性糖、微量元素和水

溶性蛋白、肽类等物质^[16]。G1 茶的水浸出物含量最高, 为 49.41%, B5 茶的含量最少, 为 37.02%。不同程度做青的绿茶水浸出物含量处于 G1 和 B5 茶之间, 但是 T2 的水浸出物含量为 3 个做青绿茶中最低的, 为 42.80%, 且与其余两个差异显著。

表 2 5 个茶样非挥发性生化成分含量

Table 2 Content of non-volatile biochemical components in five tea samples ($n=3$)

编号	含水率/%	水浸出物/%	茶多酚/%	咖啡碱/(mg/g)	氨基酸/%	黄酮/(mg/g)
G1	4.95±0.05 ^d	49.41±1.00 ^a	21.17±0.18 ^a	41.80±0.19 ^b	3.43±0.05 ^c	5.63±0.05 ^c
T2	5.27±0.06 ^c	42.80±0.08 ^c	20.60±0.23 ^a	40.14±0.84 ^c	3.48±0.07 ^c	5.86±0.02 ^d
T3	5.70±0.06 ^b	45.68±0.18 ^b	19.97±0.30 ^{ab}	43.00±0.05 ^b	3.56±0.03 ^{bc}	6.43±0.02 ^c
T4	5.85±0.04 ^a	45.71±0.18 ^b	18.90±0.15 ^c	45.16±0.11 ^a	3.73±0.06 ^b	6.55±0.01 ^b
B5	3.04±0.02 ^e	37.02±0.88 ^d	12.43±0.79 ^d	41.77±0.26 ^b	4.06±0.07 ^a	9.78±0.02 ^a

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$), 下同。

2.1.2 茶多酚和黄酮

茶多酚对不同发酵程度茶无论是在干茶外形、香气和茶汤滋味均有较大的影响, 也是茶叶中抗氧化活性重要成分之一^[17]。由表 2 可知, 5 个茶样中红茶 B5 为全发酵茶, 茶多酚总保留量最少, 为 12.43%, 并与其余的差异显著 ($P < 0.05$); 信阳绿茶 G1 含量最高的为 21.16%, 但与 T2、T3 差异不显著。T2、T3、T4 茶含量分别为 20.6%、19.97%、18.9%, 由前面知, T4 茶的茶青经历了 3 次做青, 茶多酚的保留量比 T2、T3 茶少, 且与其差异显著 ($P < 0.05$)。5 个不同发酵程度茶中黄酮含量差异显著 ($P < 0.05$), 随着做青程度的加深黄酮含量在增加。占鑫怡等^[18]研究发现不同做青程度处理后, 黄酮、茶红素、茶黄素含量随着做青程度的加深而增加, 茶多酚含量降低。

2.1.3 氨基酸和咖啡碱

氨基酸是一类以鲜醇味为主的物质, 部分在加工过程中转化为香气成分, 还有部分是由蛋白质和肽类物质转化而来, 可减少茶汤的苦涩味, 与绿茶品质呈正相关^[19]。由表 2 可知, 随着做青程度的加深, 茶叶中氨基酸含量在增加, 在茶叶不同程度的做青过程中, 由于蛋白水解酶能够更好的与茶鲜叶中的蛋白质或肽类物质接触, 所以能够使蛋白质水解反应发生剧烈, 因此有较多的游离的氨基酸进入茶汤^[20]。贺麟等^[21]研究发现, 在传统绿茶加工中融入“做青”工艺, 成品茶中氨基酸含量在增加, 这与本文研究结果一致。茶的苦味和涩味是由茶叶中的次生代谢物引起的, 茶叶的嫩叶中含有丰富的次生代谢产物, 如类黄酮、酚酸和生物碱等^[22]。咖啡碱, 属于生物碱物质、味苦, 通常情况下可与其他物质结合增加茶汤的鲜爽度, 但是当茶叶中咖啡碱的含量过多时, 会导致茶汤苦味

明显^[23]。由表 2 可知, 信阳绿茶 G1 咖啡碱含量与 T3 茶和红茶 B5 差异不显著, T2 茶为 5 个茶中咖啡碱含量最少的, 为 41.80 mg/g, 在不同程度做青处理的系列茶中, 可以看出随着做青程度加深, 咖啡碱含量有递增的趋势, 且差异不显著。卢玲等^[24]研究发现随着做青程度的逐渐增加, 咖啡碱含量呈波浪形变化, 当摇青时间为 0 min 时, 咖啡碱最高。张磊等^[25]对 4 个品种鲜叶进行轻做青处理白茶中发现有 3 个品种成品茶中咖啡碱的含量下降, 不同品种茶青在经过适当的做青可以降低茶中的咖啡碱含量, 进而降低茶汤的苦味。

综上所述, 同样茶树品种、采摘标准制作成不同做青程度的茶, 其茶中的主要化学成分随着做青程度的变化存在着规律性的变化。茶的独特口感主要来自茶多酚、氨基酸和咖啡碱等物质^[26]。随着做青程度的加深茶多酚含量在逐渐降低, 黄酮和氨基酸在增加, 咖啡碱和水浸出物存在波动变化, 因此说对茶青进行适度的做青会改变茶中的内含成分, 进而改变茶的品质。

2.2 不同做青程度所制茶叶挥发性物质差异分析

2.2.1 挥发性差异代谢物数量的分析

由表 3 可以看出, 随着做青程度的加深, 在鲜叶理化性质保持一定的范围内, 茶样挥发性差异代谢物的数量呈递增趋势, 挥发性香气成分在增多。轻度做青的 T2 茶与信阳绿茶 G1 相比, T2 茶中有 62 个挥发性成分是上调的, 也就是说通过做青处理, 茶青中的香气成分增加的幅度很大; T2 与 T3 茶相比, 上调挥发性物质 4 个, 下调的物质有 1 个, 第 2 次做青处理, 没有第一次做青的效果明显; T3 与 T4 相比, 上调了 39 个物质, 第 3 次做青处理, 茶样叶中香气成分也是

增加的。总的来说三次做青处理中，第一次做青处理茶样中挥发性差异代谢物增加的最多。林馥茗等^[27]在利用非靶向代谢组学分析茶叶做青对武夷肉桂茶叶片代谢物影响研究指出与晒青叶相比，对照组及做青组样品中鉴定出的差异代谢物分别为 21 个和 14 个，其含量主要呈现上调趋势。

表 3 不同做青程度的挥发性差异代谢物分析

Table 3 The volatile differential metabolites in different degree

tossed tea			
两个茶比较	差异代谢物	下调数量	上调数量
G1_vs_T2	62	0	62
G1_vs_T3	102	3	99
G1_vs_T4	238	1	237
G1_vs_B5	312	58	254
T2_vs_T3	4	1	3
T2_vs_T4	99	0	99
T2_vs_B5	327	112	215
T3_vs_T4	39	0	39
T3_vs_B5	326	114	212
T4_vs_B5	315	135	180

2.2.2 挥发性差异代谢物种类的分析

基于正交偏最小二乘判别分析 (Orthogonal Partial Least Squares-discriminant Analysis, OPLS-DA) 结果，从获得的多变量分析 OPLS-DA 模型的变量重要性投影 (Variable Importance in Projection, VIP)，可以初步筛选出不同发酵程度的茶样中的挥发性物质的差异的代谢物。同时结合单变量分析的 p-value 或者差异倍数 (Fold Change) 来进一步筛选出挥发性差异代谢物。本实验每一处理设置了三次重复，采取将 Fold Change、OPLS-DA 模型的 VIP 值相结合的方法来筛选差异代谢物。筛选标准：(1) 选取 Fold Change ≥ 2 和 Fold Change ≤ 0.5 的代谢物。代谢物在对照组和实验组中差异为 2 倍以上或 0.5 以下，则认为差异显著。

(2) 选取 VIP ≥ 1 的代谢物。VIP 值表示对应代谢物的组间差异在模型中各组样本分类判别中的影响强度，一般认为 VIP ≥ 1 的代谢物则为差异显著。对各分组比较中基于筛选标准鉴定得到的差异代谢物，选择在 OPLS-DA 模型中 VIP 值最大的前 20 个代谢物进行展示如下图 1。

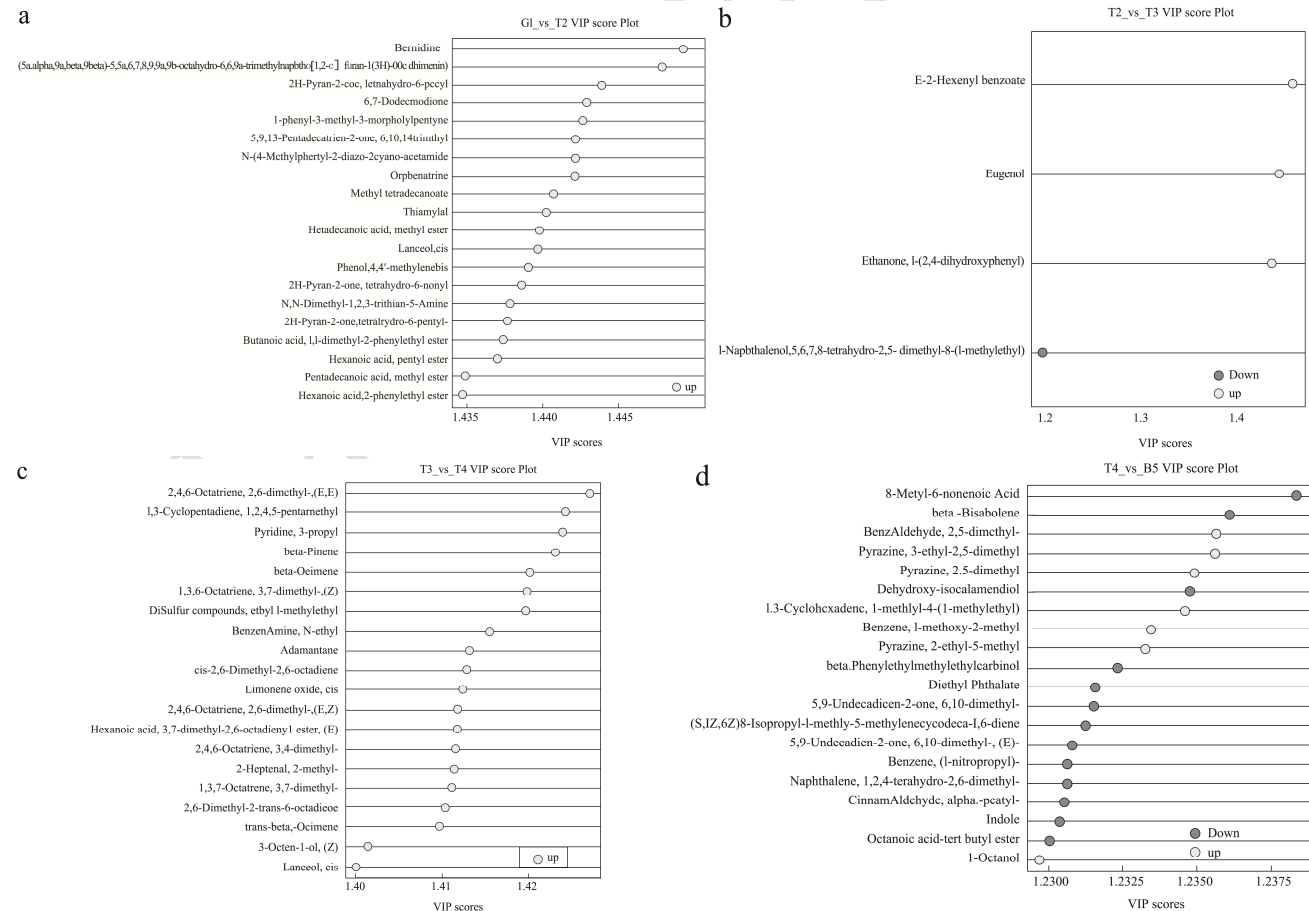


图 1 在 OPLS-DA 模型中 VIP 值最大的前 20 个代谢物

Fig.1 Top 20 metabolites with the largest VIP values in the OPLS-DA model

由图 1 可知, 图 1a 展示的是信阳绿茶 G1 对 T2 茶香气代谢物 VIP 值最大的前 20 个代谢物中, 酯类物质占 7 个, 酮类物质 4 个, 胺类物质 3 个, 烃类物质 2 个, 酚类、萜类和醛类各 1 个; 图 1b 展示: T2 对 T3 茶上调的代谢物满足上述两个条件的, 有 4 个物质, 3 个是上调的, 1 个下调的, 其中这 3 个物质分别为 E-2-己烯基苯甲酸酯、2,4-二羟基苯乙酮和丁香酚, 下调了 1 个萜酚; 图 1c 展示: T3 对 T4 满足条件的 20 个香气物质全是上调的, 其中有 8 个萜烯物质, 5 个烃类物质, 3 个醇类物质, 胺类和酯类物质各 1 个; 图 1d 展示: T4 对 B5 茶香气成分满足条件 20 个物质中, 有 7 个物质是上调的, 13 个物质是下调的, 这上调的 7 个物质中有 3 个吡嗪类物质 (3-乙基-2,5-甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、2-乙基-5-甲基吡嗪), 其余的是 2-甲基苯甲醚、2,5-二甲基苯甲醚、1-辛醇, 13 个下调物质有 3 个萜类, 2 个酯类, 2 个酮类, 酸、醛、醇各 1 个, 2 个含氮化合物, 1 个烃类物质。由此可以看出, 轻度做青的 T2 茶与没有做青的信阳绿茶 G1 相比, 香气成分种类增加较多; 重度做青的 T4 茶与中度做青的 T3 茶相比, 香气成分种类也增加较多, 但两组对比增加的香气成分的种类差异较大。

2.2.3 5 种茶样挥发性香气成分热图聚类分析

聚类分析是一种分类的多元统计分析方法。代谢物含量数据采用归一化处理, 通过 R 软件 Complex Heatmap 包绘制热图, 对代谢物在不同样本间的积累模式进行层次聚类分析。实验操作每个茶样随机取 3 个样本而后进行检测, 由图 2 可知, 相对每一个茶样 3 次随机取样检测的结果较一致, 因为检测出的香气物质种类和含量分布相对比较一致。红茶中香气成分酯类、醛类和吡嗪类在增加, 而烃类在减少。轻度做青的 T2 绿茶与 G1 信阳绿茶在香气成分组成和含量上相对比较接近, 可以看出这两个茶是最先分在一类别中, 其次是与 T3 茶, 而后 T4 茶, 最后才与红茶 B5 聚在一类。这也说明随着做青程度的加深, 茶叶中挥发性香气成分分布特点是在规律的变化。在一定范围内, 做青程度的加深, 鲜叶中的香气物质的种类和含量均在逐渐有序的改变, 味道比较苦涩的绿茶可以适当的添加做青工序, 可以减少成品茶汤的苦涩味, 比如上文分析的茶多酚和咖啡的减少, 同时也可以弥补茶叶中香气不足的缺点, 总的分析不失绿茶的风味, 只是改善其品质。Lin 等^[28]研究表明, 在每一次做青结束后挥发性香气物质相对含量高于鲜叶, 每一次做青都增加了茶香气的浓郁度。

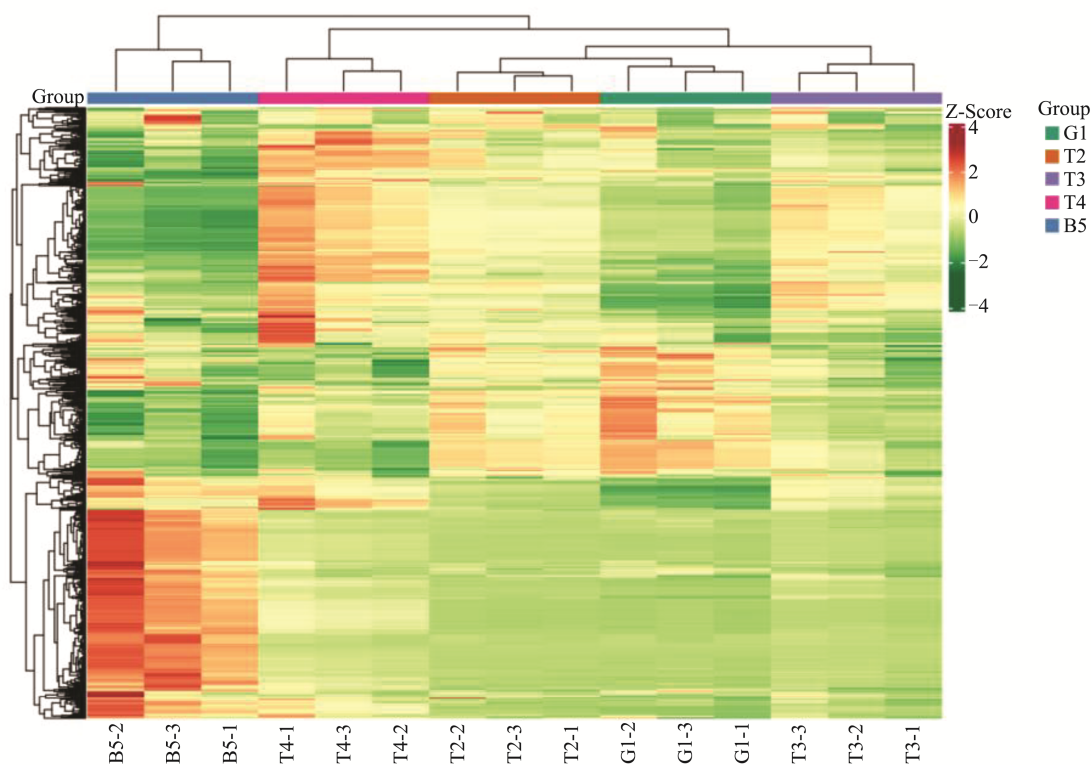


图 2 5 个茶样挥发性香气成分热图聚类分析

Fig.2 Heatmap of volatile organic compounds in 5 tea samples

注: G1-1、G1-2、G1-3 为茶样 G1 三个重复; T2-1、T2-2、T2-3 为茶样 T2 三个重复; T3-1、T3-2、T3-3 为茶样 T3 三个重复; T4-1、T4-2、T4-3 为茶样 T4 三个重复; B5-1、B5-2、B5-3 为茶样 B5 三个重复。

2.3 不同做青程度所制茶叶感官审评结果分析

由表 4 所示, 5 个茶样感官审评分按高到低顺序为 T2>B5>G1>T3>T4。T2 茶的香气和滋味, 相比 G1 绿茶来说得到了很大的提升, 减少了绿茶的苦涩感, 增加香气浓郁度, 外形更佳, 色泽油润, 条索匀整。由上文 2.2.2 挥发性差异代谢物种类分析, 可以看出, T2 茶、T4 茶在满足筛选条件下 VIP>1, 差异代谢物的种类最多, 并且均是上调; 尽管 T4 茶香气成分也增多明显, 但总体感官审评, 没有 T2 感官品质佳。T2 茶经过适当做青后, 茶梗中的水分跑到了叶子当中, 茶青经历“走水、还阳”过程, 再进行揉捻时, 条索相对揉的更紧致一些, 均匀一些。而 T4 茶历经更长时间的摇青和静置, 茶鲜叶中的水分散失较重, 酚类物质氧化较多, 引起了叶子红变, T4 茶的酚类物质为 18.90%, 与其余差异显著 ($P<0.05$)。袁林颖等^[29]通过适度轻摇青处理后制出成品茶花香持久, 滋味鲜爽, 叶底黄绿明亮, 花香浓郁。本文 T2 茶经过适度摇青处理后, 品质得到类似的提升。口感

是评价茶叶品质的主要因素, 与风味成分, 特别是非挥发性成分的组成和含量有关^[30]。不同的茶鲜叶由于理化性质不一样, 所以采取适宜它的加工工艺, 会做出最佳品质的茶。

2.4 5 种茶样抗氧化能力的比较分析

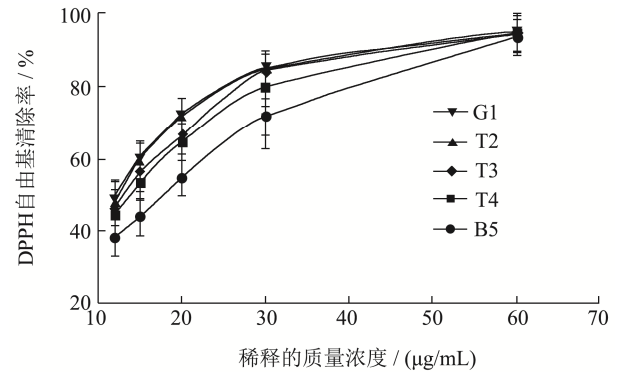


图 3 5 种茶在不同浓度下的清除率趋势线

Fig.3 Trend line of clearance rate of 5 kinds of tea at different concentrations

表 4 5 种茶样感官审评结果

Table 4 The sensory evaluation results of 5 tea samples									
编号	外形(25%)	得分	汤色(10%)	得分	香气(25%)	得分	滋味(30%)	得分	叶底(10%) 得分 总分
G1	欠匀整、条索紧结、有白毫、颜色青暗	85	嫩黄明亮	88	板栗香夹有青气	89	浓厚	90	匀整 88 88.10
T2	油润、颜色墨绿、条索稍弯曲	88	黄绿	85	香气馥郁	95	唇齿留香、鲜浓	95	较匀整 85 91.25
T3	颜色花杂、条索松散卷曲	80	金黄	82	甜花香	92	甜香、鲜醇	92	绿叶红边 82 87.00
T4	条缩短碎、下脚重	78	蜜黄	80	有花香	90	有花香、淡薄	88	红变 79 84.30
B5	乌黑油润、身骨重实、条索匀整	90	黄红	90	甜薯香	86	味浓甜厚	90	全红 92 89.20

表 5 5 种茶清除 DPPH 自由基能力

Table 5 DPPH radical scavenging ability of 5 kinds of tea samples

茶样	回归方程	相关系数(R^2)	IC ₅₀ 值/(μg/mL)	变异系数/%
G1	$Y=27.945 \ln(X)+177.29$	0.936 7	2.425 ± 0.028^e	1.614
T2	$Y=28.495 \ln(X)+179.11$	0.941 6	2.546 ± 0.027^d	1.521
T3	$Y=30.407 \ln(X)+184$	0.955 2	2.785 ± 0.025^c	1.288
T4	$Y=31.618 \ln(X)+186.43$	0.979 8	2.891 ± 0.018^b	0.881
B5	$Y=35.294 \ln(X)+193.35$	0.996 5	3.409 ± 0.013^a	0.559

把原茶汤稀释 5 个质量浓度梯度测定其对应的 DPPH 清除率, 绘制成动态曲线图 3, 由图 3 知, 随着浓度的增大其清除率在递增, 其中发现信阳绿茶 G1 和轻度做青 T2 茶两条线基本重合, 也是最上面的线, 说明此 2 种茶的相对清除率最高, 而发酵程度最深的红茶 B5 是最下面的一条线, 清除率最小。然后再根

据这些数据拟合出线性回归方程, 计算 5 种茶汤的半抑制浓度 IC₅₀, IC₅₀ 值为当茶汤的 DPPH 自由基清除率为 50% 时的浓度^[31], 结果见表 5。通过 IC₅₀ 值衡量 5 个茶样的抗氧化活性, IC₅₀ 值越大, 其抗氧化活性越小, 清除 DPPH 自由基能力越小。分析知, 5 种茶样 G1 和 T2 茶的 IC₅₀ 值比较接近, 是最小的, 而 B5 信

阳红茶 IC₅₀ 值最大, 清除 DPPH 自由基的能力最弱。周瑞等^[32]通过 2 种抗氧化方法测定, 均得到未发酵的茶抗氧化活性高于发酵茶, 这与本文研究结果较一致。

2.5 5 种茶样内含成分与抗氧化活性相关性分析

由前文知, 5 种茶样代表清除 DPPH 自由基能力 1/IC₅₀ 值与其对应茶样中主要的内含成分含量进行相关性分析, 结果为与其茶多酚含量成正相关, 差异为极显著 ($P<0.01$), 相关系数为 0.899; 与氨基酸和黄酮成负相关 ($P<0.01$), 相关系数分别为 0.904、0.922; 说明此茶样中茶多酚含量越高, 氨基酸、黄酮含量越低, 茶叶清除 DPPH 自由基能力越强。Salman 等^[33]研究表明随着发酵程度的增加, 清除 DPPH 自由基能力与多酚含量呈正相关。

对上文分析的 63 种挥发性香气差异代谢物与 IC₅₀/1 值进行相关性分析, 把相关系数大于 0.9 且差异显著 ($P<0.05$ 或者 $P<0.01$), 现统计如下表, 由表 6 知, 有 19 种挥发性成分与清除 DPPH 能力成负相关,

说明随着做青程度的加深, 这些挥发性物质在增加, 只有 1 种物质是成正相关的, 随着做青程度的加深此物质是减少的。任洪涛等^[34]在普洱茶挥发性成分抗氧化活性中指出 31 种香气成分中, 有 18 种香气成分与其清除 DPPH 自由基的能力成负相关, 也就是随着做青程度的增加, 这些挥发性物质在增加。由表 6 可以更进一步看出, β -蒎烯、反式-2,6-二甲基-2,6-辛二烯、顺式-2,6-二甲基-2,6-辛二烯、 α -柠檬烯、反式- β -罗勒烯、顺式- β -罗勒烯等这些单帖类物质在绿茶中含量较高, 在离体鲜叶进一步做青程度的加重条件下, 这些物质的含量增加较为明显, 王鹏杰等^[35]研究指出单帖类化合物大都含有浓郁的香气, 比如罗勒烯具有甜香, β -蒎烯的松木香, α -柠檬烯具有花香和果香, 由表 4 茶叶感官审评可以看出, 茶样香气特点由强烈的板栗香逐渐向柔和的甜花香转化。离体鲜叶在不同程度做青制茶工艺的处理下, 鲜叶中萜类合酶类物质在发挥重要的作用, 增加单帖香气物质, 进而改变了茶叶的香气特点。

表 6 挥发性差异代谢物含量与 1/IC₅₀ 值相关性分析

Table 6 Correlation analysis between volatile aroma components and 1/IC₅₀ value

挥发性香气成分差异代谢物	含量/($\mu\text{g/g}$)					相关系数
	G1	T2	T3	T4	B5	
1-苯基-3-甲基-3-吗啉基戊炔	0.000 392	0.002 048	0.002 926	0.003 451	0.003 942	-0.927*
N-(4-甲基苯基)-2-重氮-2-氧基乙酰胺	0.000 665	0.003 547	0.005 095	0.006 026	0.006 754	-0.920*
十四烷酸甲酯	0.000 854	0.003 400	0.004 748	0.005 974	0.007 569	-0.966**
噻甲醛	0.000 053	0.000 275	0.000 383	0.000 459	0.000 533	-0.932*
十六酸甲酯	0.037 925	0.188 971	0.259 998	0.299 158	0.332 693	-0.907*
6-壬基四氢-2H-吡喃-2-酮	0.000 867	0.002 300	0.002 914	0.002 746	0.003 491	-0.905*
十五酸甲酯	0.000 181	0.000 734	0.001 178	0.001 335	0.001 727	-0.97**
E-2-己烯基苯甲酸酯	0.002 260	0.005 681	0.012 929	0.024 623	0.034 916	-0.968**
丁子香酚	0.000 497	0.000 728	0.001 814	0.002 677	0.007 302	-0.939*
1,2,3,4,5-五甲基-1,3-环戊二烯	0.007 534	0.007 785	0.009 404	0.021 464	0.046 555	-0.901*
3-丙基吡啶	0.017 239	0.017 216	0.021 203	0.047 563	0.102 337	-0.901*
β -蒎烯	0.135 107	0.138 786	0.168 756	0.379 957	0.807 727	-0.902*
Z- β -罗勒烯	0.030 295	0.031 087	0.039 017	0.088 229	0.202 364	-0.900**
顺式-2,6-二甲基-2,6-辛二烯	0.060 863	0.060 488	0.073 128	0.153 298	0.318 651	-0.902*
2-甲基-2-庚醛	0.033 901	0.034 593	0.039 842	0.089 307	0.177 924	-0.901*
α -柠檬烯	0.055 026	0.058 767	0.075 108	0.157 319	0.355 333	-0.906*
反-2,6-二甲基-2,6-辛二烯	0.060 861	0.060 586	0.071 726	0.153 095	0.319 386	-0.900*
E- β -罗勒烯	0.055 307	0.059 189	0.075 585	0.154 323	0.351 499	-0.905*
(Z)-3-辛烯-1-醇	0.002 400	0.002 973	0.003 653	0.007 533	0.013 245	-0.928*
3-甲基-1-苯基-3-戊醇	0.004 342	0.003 821	0.003 209	0.003 634	0.001 019	0.913*

3 结论

本研究针对不同做青程度的茶样进行茶汤生化成分、挥发性成分、抗氧化活性以及感官品质进行测定分析,发现在夏初信阳茶区常温条件下,轻度做青后的鲜叶所制干茶的感官品质花香显露,滋味醇正,苦涩味茶多酚、苦味的咖啡碱降低;在滋味品质成分上,茶多酚含量适当的降低,氨基酸有所增加,香气物质随着做青程度的加深,香气物质的量在增加。不同做青程度的茶抗氧化性随着发酵程度加深,清除 DPPH 自由基的能力降低,且与其主要生化成分茶多酚含量呈显著正相关 ($P<0.01$),而与其氨基酸、黄酮化合物含量成负相关 ($P<0.01$),与 16 种香气成分呈显著的负相关 ($P<0.05$)。

在传统绿茶信阳毛尖的加工中适度科学融入“做青”工艺,不仅降低了成品茶中茶多酚、咖啡碱等苦涩味物质含量,同时增加了氨基酸、可溶性糖等鲜味和甜味物质含量,也激发了特定香气品质成分的酶促反应和热化学反应,促进花香品质的形成,尤其单帖类香气物质增加明显,说明采用粗老的信阳毛尖原料,融合“做青”技术,完全可以加工出具有花香品质的夏季绿茶。本研究将根据鲜叶的理化状态,进一步优化做青程度,尽量让每一批鲜叶都加工出高品质的信阳绿茶,为江北茶区小叶种鲜叶的综合利用提供理论依据和技术指导。

参考文献

- [1] Guo X Y, Ho C T, Schwab W, et al. Aroma profiles of green tea made with fresh tea leaves plucked in summer [J]. Food Chemistry, 2021, 363(14): 130328.
- [2] Wang W F, Han S, Zha X J, et al. Response surface optimization of supercritical carbon dioxide extraction of tea polyphenols from green tea scraps [J]. Journal of AOAC International, 2019, 102(2): 451-456.
- [3] 李朋亮.基于修饰代谢组学的绿茶中糖苷类品质成分研究[D].武汉:华中农业大学,2018.
- [4] 路欣.凤凰单丛加工过程中香气及糖苷类香气前体变化研究[D].重庆:西南大学,2018.
- [5] 柏无瑕.六安瓜片中黄酮及其糖苷类化学成分的分离鉴定及活性研究[D].合肥:安徽农业大学,2017.
- [6] Xue J J, Liu P P, Guo G Y, et al. Profiling of dynamic changes in non-volatile metabolites of shaken black tea during the manufacturing process using targeted and non-targeted metabolomics analysis [J]. LWT, 2022, 156: 113010.
- [7] 汤雯,屠幼英.利用加工方法提高夏秋茶品质研究进展[J].茶叶,2010,2:77-81.
- [8] 王灵均,匡新.高香绿茶工艺的研究[J].茶叶通讯,2007,1:24-25,27.
- [9] 武小寒.不同茶树品种与季节新梢樱草糖苷类物质含量分析及其与成品茶香气的关系研究[D].杭州:浙江大学,2020.
- [10] 段玲靓.加工工艺改善夏秋粗老茶香气与滋味的研究[D].杭州:浙江大学,2012.
- [11] 杨建峰.信阳毛尖的品质标准[J].茶业通报,1985,5:14-15.
- [12] 郭桂义,刘黎,胡强,等.春季不同时期信阳毛尖茶的化学成分和品质的比较研究[J].食品科技,2007,9:141-144.
- [13] 陈义,袁丁,孙慕芳.信阳毛尖茶叶感官品质与化学成分的相关性分析[J].江苏农业科学,2014,42(11):342-344.
- [14] 李远华.茶学综合实验[M].北京:中国轻工业出版社,2018.
- [15] 张彧,姜业硕,曾小宁,等.信阳产地不同茶类抗氧化活性的研究[J].食品安全质量检测学报,2022,13(5):1430-1437.
- [16] 卢莉,程曦,刘金仙,等.小种红茶水浸出物近红外定量分析模型的建立[J].食品研究与开发,2020,41(5):189-193.
- [17] 王伟伟,陈琳,张建勇,等.茶多酚的特性及其在食品中的应用[J].中国茶叶,2020,42(11):1-7.
- [18] 占鑫怡,杨云,陈彬,等.不同摇青程度春闽北乌龙茶品质差异分析[J].食品工业科技,2023,11:271-279.
- [19] 宛晓春.茶叶生物化学(第二版)[M].北京:中国农业出版社,2003.
- [20] Liu P P, Yin J F, Chen G S, et al. Flavor characteristics and chemical compositions of oolong tea processed using different semi-fermentation times [J]. Journal of Food Science & Technology, 2018, 55(25):1185-1195.
- [21] 贺麟,李宗琼,张拓,等.夏季茶鲜叶加工花香型绿茶工艺技术研究[J].食品与机械,2019,35(6):195-200.
- [22] Ye J H, Te Y, Yin J F, et al. Bitterness and astringency of tea leaves and products: Formation mechanism and reducing strategies [J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 123: 130-143.
- [23] 王伟伟,张建勇,王蔚,等.茶叶中咖啡碱的开发利用[J].中国茶叶,2021,43(5):11-15.
- [24] 卢玲,周才元,赵幸运,等.不同摇青程度对苔茶群体茶树品种制作青茶品质的影响[J].广东茶业,2022,4:15-20.
- [25] 张磊,吴民亿,杨如兴.不同加工工艺对白茶品质的影响初报[J].茶叶科学技术,2010,3:20-23.
- [26] Huang X X, Tang Q, Li Q, et al. Integrative analysis of transcriptome and metabolome reveals the mechanism of foliar application of *Bacillus amyloliquefaciens* to improve summer tea quality (*Camellia sinensis*) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2022, 185: 302-313.

- [27] 林馥茗,孙威江.基于非靶向代谢组学研究做青工序对肉桂茶代谢产物的影响[J].福建农业学报,2022,37(7):921-928.
- [28] Lin S Y, Lo L C, Chen L Z, et al. Effect of shaking process on correlations between catechins and volatiles in oolong tea [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2016, 24(3): 500-507.
- [29] 袁林颖,周正科,高飞虎,等.花香绿茶的加工工艺[J].西南园艺,2001,3:47-48.
- [30] Wang J Q, Fu Y Q, Chen J X, et al. Effects of baking treatment on the sensory quality and physicochemical properties of green tea with different processing methods [J]. Food Chemistry, 2022, 380: 132217.
- [31] 刘娜娜,张彧,华晓梅,等.不同等级烘青绿茶生化成分及抗氧化能力的研究[J].食品安全质量检测学报,2021,12(22): 8878-8882.
- [32] 周端,刘淑敏,黄惠华.发酵程度不同的茶浸提液抗氧化能力比较及茶多酚细胞抗氧化活性研究[J].食品科技,2014, 39(9):216-222.
- [33] Salman S, ÖZ Gülsüm, Felek R, et al. Effects of fermentation time on phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of green, oolong, and black teas [J]. Food Bioscience, 2022, 49: 101884.
- [34] 任洪涛,周斌,秦太峰,等.普洱茶挥发性成分抗氧化活性研究[J].茶叶科学,2014,34(3):213-220.
- [35] 王鹏杰,陈丹,俞滢,等.茶树单萜合成酶 CsTPS 基因的克隆及表达分析[J].西北植物学报,2017,37(8):1465-1473.