

## 不同嫩度滇产茶总游离氨基酸含量分析

钱 靖, 陈春月, 曹喜念, 钊相龙, 肖 涵\*

(昆明学院 化学科学与技术系, 云南 昆明 650214)

**摘要:**总游离氨基酸是判断茶叶口感和质量的重要指标,受茶叶嫩度、加工方式、贮期等多重因素干扰.滇产茶内含物丰富,总游离氨基酸含量较高.因此,基于国标的茚三酮比色法,对云南产茶叶样品总游离氨基酸含量进行研究,并对其含量与嫩度关系进行探讨.结果表明,茶样 TFAA 含量顺序为: $w(\text{单芽}) > w(\text{一芽两叶}) > w(\text{一芽三叶}) > w(\text{黄片})$ ,这也是区分一芽三叶以上粗老茶叶与正常茶叶的可靠指标.

**关键词:**云南;茶;总游离氨基酸;嫩度

**中图分类号:**TS272.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1674-5639(2017)06-0042-04

**DOI:**10.14091/j.cnki.kmxyxb.2017.06.009

### Analysis of Total Free Amino Acids in Yunnan Tea Products with Different Tenderness

QIAN Jing, CHEN Chunyue, CAO Xinian, CHUAN Xianglong, XIAO Han\*

(Department of Chemical Science and Technology, Kunming University, Kunming, Yunnan, China 650214)

**Abstract:** Total free amino acids is an important indicator of tea taste and quality. Because of the different tenderness, processing methods, storage time, etc. Yunnan possesses good tea (*Camellia* L.) products containing rich contents and high total free amino acid. So the total free amino acid contents of 188 tea samples produced in Yunnan province were studied based on GB standard method, and the variance analysis of tea samples was carried out according to different tendency. The results showed that the order of total free amino acid contents in tea samples was:  $w(\text{bud}) > w(\text{one-bud and two-leaf}) > w(\text{one-bud and three-leaf}) > w(\text{old leaf})$ . TFAA would be a reliable indicator to distinguish the coarse leaf above one-bud and three-leaf from normal tea leaf.

**Key words:** Yunnan; tea; total free amino acid (TFAA); tendency

茶是山茶属 (*Camellia* L.) 植物茶树种芽叶经各种特殊工艺加工而成的冲泡型制品. 茶汤主要滋味成分有氨基酸、茶多酚、咖啡碱等. 茶汤中的总游离氨基酸 (Total free amino acids, TFAA) 指茶叶水浸出物中呈游离状态存在具有  $\alpha$ -氨基的有机酸<sup>[1]</sup>, 是形成茶叶鲜爽滋味、香气的重要物质<sup>[2]</sup>. TFAA 含量 (质量分数, 下同) 与茶叶品质呈显著正相关, 对茶叶的滋味判断、质量控制显得尤为重要. 田洋等<sup>[3]</sup>、刘兴勇等<sup>[4]</sup> 对云南不同地区大叶种茶 (*Camellia sinensis*) 样品进行 TFAA 测定, 表明云南省大叶种茶树产品茶叶中蛋白质、氨基酸、维生素、

咖啡碱、多酚类、芳香油等有效成分的含量均较高.

茶叶中 TFAA 测定可用茚三酮比色法直接检测总量, 也可分离 TFAA 各组分后将其含量加和获得<sup>[5]</sup>. 其常用测定方法有氨基酸分析法、高效液相色谱法、毛细管电泳法、紫外分光光度法<sup>[6]</sup>、气质联用法<sup>[7]</sup>、气相色谱法、近红外光谱法<sup>[8]</sup>等. 而茚三酮比色法具有简便、重现性好、可批量快速检测样品的特点, 因此对于测定大批量茶样的 TFAA 更为适用.

茶产品的 TFAA 含量受多个过程、多重因素干扰: 茶叶的自然种植条件 (土壤、水源、气候等)、茶产品的采摘方式、加工工艺、茶产品的运输储藏过程

**收稿日期:**2017-10-18

**基金项目:**昆明学院应用型人才培养改革创新项目“化学化工类大学生创新实践基地建设”.

**作者简介:**钱靖 (1994—), 男, 云南曲靖人, 化学科学与技术系 2013 级本科生, 主要从事食品与药品检验研究.

\* **通讯作者:**肖涵 (1981—), 女, 云南大理人, 副教授, 博士, 主要从事环境分析和食品分析研究, E-mail: blackcrossing630@vip.sina.com.

等均不同程度影响 TFAA<sup>[9]</sup>. 其中茶叶等级作为公认的口感品质指标,多根据芽叶数进行划分. 但目前有关 TFAA 和茶叶等级的相关性研究仍然不多. 已有研究<sup>[10]</sup>表明,在茶树不同部位,紫娟茶树新梢氨基酸含量变化与不同采摘时间呈显著负相关,随采摘时间延长逐渐减少. 付赢萱<sup>[9]</sup>认为,叶子越老氨基酸含量越低,黄片茶的低游离氨基酸含量与其是老叶子制成有关. 王茹芸等<sup>[11]</sup>研究表明,不同级别的普洱茶种的游离氨基酸总量基本表现出级别越高,则氨基酸总量越高的趋势. 陈丹等<sup>[12]</sup>的研究表明,红碎茶等级越高,氨基酸总量越高,品质越好. 范培珍等<sup>[13]</sup>的研究表明,茶汤中特一级、一级和三级霍山黄芽的游离氨基酸总量差异显著,高等级茶叶的氨基酸含量显著高于低等级茶叶.

本文拟以滇产茶叶为分析对象,采用国标法对其 TFAA 含量进行测定和比较,以了解茶叶 TFAA 含量在不同嫩度级别中的分布情况.

1 材料与方法

1.1 茶样的采集与分类

以市场采购的方式收集云南各地区生产的 188 个茶叶样品,封袋编号. 标记为:绿茶 G、红茶 B、普洱生茶 PE、普洱熟茶 PU.

每个茶样各取 3 份,每份 5.0 g,加入 80℃ 水 250 mL 浸泡,叶片展开后取出计数,每份茶样 80% 以上叶片的嫩度记为总嫩度,分为单芽、一芽两叶、一芽三叶、黄片 4 类.

对 4 类茶叶采用双盲法进行 TFAA 含量测定.

1.2 仪器与试剂

实验所用药品及仪器如表 1 和表 2 所示.

表 1 实验用药品

药品名称	级别	规格	厂家
茛三酮	AR	5 g	广东光华科技股份有限公司
磷酸二氢钾	AR	500 g	天津市风船化学试剂科技有限公司
磷酸氢二钠	AR	500 g	天津市风船化学试剂科技有限公司
L-谷氨酸	AR	100 g	上海新兴化工试剂研究所
抗坏血酸	AR	25 g	国药集团化学试剂有限公司(上海)
乙醇	AR	500 mL	天津市风船化学试剂科技有限公司

表 2 实验仪器

仪器	型号	厂家
759 紫外可见分光光度计	759	上海菁华科技仪器有限公司
精密电子天平	ML204	丹佛仪器北京有限公司
电子万用炉	NO.91718959	北京市永光明医疗有限公司
比色管	25 mL/50 mL	天玻
容量瓶	50 mL/100 mL	天玻
吸量管	1 mL/5 mL	天玻

1.3 实验方法

氨基酸在 pH8.0 时,与茛三酮反应生成紫色络合物( $\lambda_{\max}=570\text{ nm}$ ),使用分光光度计测定其吸光度. GB 规定使用谷氨酸或茶氨酸作为标准物. 马雪洸等<sup>[14]</sup>的研究结果表明,谷氨酸作为标准物质更加科学合理,且化合物较稳定,来源易得. 故本文采用谷氨酸作为标准物质.

1.3.1 茶样前处理

将选取的茶叶样品粉碎混合均匀过 100 目筛,转入试样袋并进行编号. 分类为:绿茶 G、红茶 B、普洱生茶 PE、普洱熟茶 PU.

分别准确称取茶样 PE 和 PU:1.5 g,B 和 G:0.5 g,置于 50 mL 比色管中,加入 60% 乙醇 45 mL,80℃ 恒温水浴 45 min,提取 2 次过滤洗涤后定容至 50 mL.

1.3.2 标准曲线的制作

准确吸取 1 mg/mL 谷氨酸标液 0.0,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6 mL 于 25 mL 比色管中,各加水 4.0 mL,茛三酮溶液 1.0 mL 和磷酸盐缓冲液(pH8.0)2.0 mL,沸水浴 15 min,冷却后定容至 25 mL,10 min 后进行测定( $\lambda_{\max}=570\text{ nm}$ ).

1.3.3 样品的测定

准确吸取试液 1.0 mL,注入 25 mL 比色管中,各加水 4.0 mL,茛三酮溶液 1.0 mL 和磷酸盐缓冲液(pH8.0)2.0 mL,沸水浴 15 min,冷却后定容至 25 mL,10 min 后进行测定( $\lambda_{\max}=570\text{ nm}$ ).

1.4 数据处理方法

采用 SPSS 23.0 进行数据统计,单因素 ANOVA 法进行方差分析.

## 2 结果与讨论

### 2.1 滇产茶叶 TFAA 质量分数概况

对来自云南不同地区茶样( $n=188$ )中的 TFAA 的质量分数进行检测,概况见表 3.

表 3 滇产茶 TFAA 质量分数概况

类别	$n$	范围/%	均值/%	$RSD$ /%	极差/%
总计	188	0.49 ~ 5.14	$2.00 \pm 0.97$	48.52	4.65

由表 3 可知,所有茶样 TFAA 质量分数均值为  $2.00\% \pm 0.97\%$ , 范围为 0.49% ~ 5.14%, 其均值略低于类似研究<sup>[4,8-9,11]</sup>, 这主要是普洱熟茶过低的

TFAA 质量分数产生的拉平效应. 所有茶样 TFAA 质量分数极差为 4.65%,  $RSD$  为 48.52%, 说明茶样的 TFAA 质量分数波动范围较大, 其原因可能是: 1) 加工方式多样, 包括了 4 种不同的加工类型; 2) 茶样来源较为广泛, 来自云南 9 个不同地区; 3) 涉及厂家众多; 4) 涉及台地茶和大叶种茶多个品种. 因此有必要进一步积累茶样和数据, 充分研究各因素的交互作用.

### 2.2 不同嫩度茶样 TFAA 质量分数差异

去掉浸泡过程中难以区分叶片数量的 5 个茶样, 将 183 个茶样按嫩度分为 4 级, 对其 TFAA 质量分数进行统计, 结果见表 4.

表 4 不同嫩度茶叶 TFAA 概况

嫩度	$n$	(均值 $\pm$ $SD$ )/%	$RSD$ /%	最小值/%	最大值/%	极差/%
单芽	11	$2.72 \pm 0.25$	9.03	1.37	4.44	3.07
一芽两叶	37	$2.48 \pm 0.15$	5.94	0.90	4.62	3.72
一芽三叶	127	$1.76 \pm 0.07$	4.35	0.49	4.83	4.34
黄片	8	$1.65 \pm 0.35$	21.40	0.59	3.25	2.66
总计	183	$1.96 \pm 0.07$	3.52	0.49	4.83	4.34

由表 4 可看出, 滇产茶产品中, TFAA 质量分数单芽最高, 由新芽向下逐渐降低. 这与范培珍等<sup>[13]</sup>的研究结果趋同, 也与张振梅等<sup>[15]</sup>一芽一叶 TFAA 质量分数高于一芽三叶的结论一致. 说明 TFAA 总质量分数可以作为判定茶原料嫩度、口感乃至品质的指标. 此外, 单芽和黄片样品  $RSD$  较大, 而一芽两叶、一芽三叶样品的 TFAA 质量分数稳定性较好. 分析其原因, 除去受样本数较少的影响外, 对于单芽产品主要是受加工方式的影响. 而对于黄片这种采用大叶种茶老叶片的特殊生茶制品而言, 较高的  $RSD$  可能是主要受其来自于不同地区的干扰.

### 2.3 不同嫩度茶样 TFAA 方差分析结果

对不同嫩度茶样使用单因素 ANOVA 法进行方差分析, 数据方差齐, 采用 LSD 法检验其显著性差异, 结果见表 5.

表 5 不同嫩度茶样 TFAA 方差分析结果

嫩度	单芽	一芽两叶	一芽三叶
一芽两叶	0.416		
一芽三叶	0.001 **	0.000 **	
黄片	0.009 **	0.016 *	0.746

由表 5 可知, 在不同嫩度茶样中, 单芽和一芽两叶、一芽三叶和黄片茶样间的 TFAA 质量分数差异无统计学意义; 而在单芽和一芽三叶、单芽和黄片、一芽两叶和一芽三叶间的 TFAA 质量分数差异有统计学意义. 说明可能茶叶氨基酸主要集中在芽尖至一芽两叶部位, 从而导致自三叶起 TFAA 质量分数出现显著不同. 同时, 也说明 TFAA 可以作为判断粗老茶叶(一芽三叶以上和黄片)和正常茶叶的重要指标.

## 3 结论

1) 在 188 个云南茶产品中, 总游离氨基酸 TFAA 质量分数范围为 0.49% ~ 5.14%, 其均值为  $2.00\% \pm 0.97\%$ , 与以往报道接近. 由于受不同地区、不同茶种、不同加工因素、不同嫩度等多重因素干扰, 因此其质量分数范围波动较大.

2) 183 个茶样按其嫩度分级后, 其 TFAA 质量分数顺序为:  $w(\text{单芽}) > w(\text{一芽两叶}) > w(\text{一芽三叶}) > w(\text{黄片})$ . 一芽两叶、一芽三叶样品茶氨酸质量分数波动较小, 说明其产品质量相对稳定; 单芽和黄片波动较大, 这可能受不同茶种或不同采收期的影响, 有待进一步研究.

3)对不同嫩度茶样 TFAA 方差分析结果表明, TFAA 可作为有效区分正常(单芽、一芽两叶)与粗老叶(一芽三叶和黄片)的可靠指标.一芽三叶和一芽两叶产品 TFAA 差异有统计学意义,说明可能从第3叶起,茶叶的 TFAA 急剧下降.

### [参考文献]

- [1] 中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院. 茶游离氨基酸总量测定: GB/T 8314—2002[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
  - [2] HAMEEDA B, HARINI G O P, RUPELAB S P, et al. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macro-fauna[J]. Microbiology Research, 2008, 163(2): 234–242.
  - [3] 田洋, 肖蓉, 徐昆龙, 等. 普洱茶加工过程中主要成分变化及相关性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(11): 20–24.
  - [4] 刘兴勇, 师江, 邵金良, 等. 普洱茶晒青样游离氨基酸和色泽差异研究[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 46–50.
  - [5] 王川丕, 刘新, 诸力. 两种方法测定茶叶游离氨基酸总量的差异及其原因分析[J]. 中国茶叶, 2012(12): 12–14.
  - [6] 井然, 冯雷, 陈丽梅. 茶叶中游离氨基酸分析方法的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(17): 9186–9187.
  - [7] 张佳, 王川丕, 阮建云. GC-MS 及 GC 测定茶叶中主要游离氨基酸的方法研究[J]. 茶叶科学, 2010(6): 445–452.
  - [8] 张民, 李银花, 袁晴春, 等. 近红外光谱对鲜茶叶茶多酚和氨基酸总量检测的研究[J]. 上海农业学报, 2015, 31(6): 36–40.
  - [9] 付赢莹. 不同类别普洱茶的特性及其渥堆发酵研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
  - [10] 孙云南, 殷丽琼, 夏丽飞, 等. 不同树龄紫娟品种茶多酚、氨基酸差异探析[J]. 山西农业科学, 2015, 43(10): 1243–1246.
  - [11] 王茹芸, 李亚莉, 周红杰. 普洱茶中氨基酸与贮期、级别及品质关系的研究[J]. 西南农业学报, 2012, 25(4): 1222–1226.
  - [12] 陈丹, 叶小辉, 俞滢, 等. 不同等级云南红碎茶的氨基酸组分分析[J]. 福建茶叶, 2014, 36(4): 24–26.
  - [13] 范培珍, 郑雨婷, 王梦馨. 不同等级霍山黄芽茶滋味的电子舌评价及呈味氨基酸组成[J]. 贵州农业科学, 2017, 45(5): 105–109.
  - [14] 马雪泷, 邹鹏飞, 王荡强, 等. 茶中游离氨基酸测定标样的选择[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 61–63.
  - [15] 张振梅, 石元值, 马立锋, 等. 采摘标准与施氮水平对茶树春茶产量/品质及氮素利用的影响[J]. 茶叶科学, 2014, 34(5): 506–514.
- ~~~~~
- (上接第27页)
- [8] 谢已书, 赵会纳, 戚源明, 等. 成熟度对烤后烟叶外观等级质量和内在品质的影响[J]. 云南农业大学学报, 2012, 27(6): 858–862.
  - [9] 谢利忠, 甘建雄, 叶志国, 等. 不同采收成熟度对红花大金元烟叶质量的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(16): 128–131.
  - [10] 邓世媛, 谢晋, 周立非, 等. 精量施氮对烤烟成熟期叶片碳氮代谢的影响[J]. 烟草科技, 2013(9): 78–83.
  - [11] 尹永强, 沈方科, 何明雄, 等. 断根、环割对烤烟叶片钾含量及产质的影响[J]. 河南农业科学, 2011, 40(7): 51–54.
  - [12] 许自成, 张婷, 卢秀萍, 等. 打顶后施用生长素(IAA)和钾肥对烤烟碳氮代谢的影响[J]. 生态学杂志, 2007, 26(4): 461–465.
  - [13] 李健忠, 薛立新, 朱金峰, 等. 赤霉素和茶乙酸互作对烤烟生长、碳氮代谢及烟叶品质的影响[J]. 植物生理学报, 2015(9): 1473–1481.
  - [14] 王寒, 林锐锋, 彭琛, 等. 采收时间对烤烟碳氮代谢关键酶活性和烟叶化学成分的影响[J]. 烟草科技, 2013(8): 81–86, 92.
  - [15] 张建, 郑登峰. 烤烟采收次数对烟叶品质的影响[J]. 贵州农业科学, 2008, 36(3): 59–60.
  - [16] 丁福章, 王发鹏, 郑登峰, 等. 发酵饼肥与减少采收次数对烤烟产质量的影响[J]. 江西农业学报, 2011, 23(6): 43–45.
  - [17] 谢已书, 刘大义. 不同采收方法对烤烟产量和质量的影响[J]. 贵州农业科学, 2000, 28(2): 32–34.
  - [18] 宫长荣, 李巍, 司辉, 等. 下部烟叶采收时间对上部叶生理生化变化及烤后质量的影响[J]. 烟草科技, 2003(9): 36–38.
  - [19] 张树堂. 一次性采收上部烟叶的成熟度及成熟特征研究[J]. 中国农业科技导报, 2012, 14(5): 123–129.
  - [20] 曾建敏, 王亚辉, 肖炳光, 等. 不同烤烟品种经济烘烤效率和叶片失水特性差异研究[J]. 江西农业学报, 2011, 23(1): 5–9.
  - [21] 王瑞新. 烟草化学品质分析法[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1998.
  - [22] 王健, 何建华, 徐彦军. 烤烟下部叶采收次数对中部叶糖代谢相关酶活性的影响[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(8): 59–61.
  - [23] 蔡宪杰, 刘茂林, 谢德平, 等. 提高上部烟叶工业可用性技术研究[J]. 烟草科技, 2010(6): 12–19.