

# 云南普洱和临沧地区茶产品游离氨基酸总量测定研究

林家雄, 钊相龙, 陈春月, 曹喜念, 徐曼曼, 肖 涵\*  
(昆明学院 化学科学与技术系, 云南 昆明 650214)

**摘要:**使用国标法对云南普洱地区和临沧地区 96 个茶样游离氨基酸总量进行测定,统计不同类型茶游离氨基酸总量差异.结果表明,普洱地区 61 个茶叶样品游离氨基酸总量较高,其均值为 $(2.24 \pm 1.19)\%$ .临沧地区 35 个茶叶样品游离氨基酸总量偏低,其均值为 $(1.99 \pm 0.95)\%$ ,但其质量分数较为稳定.游离氨基酸总量在绿茶—红茶间差异无统计学意义,在普洱熟茶与其他茶种间差异均有统计学意义,说明长时间堆渥发酵是游离氨基酸总量的关键影响因素.

**关键词:**茶;普洱地区;临沧地区;不同制茶品种;游离氨基酸总量

**中图分类号:**TS272.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1674-5639(2017)03-0030-04

**DOI:**10.14091/j.cnki.kmxyxb.2017.03.008

## Analysis of Total Free Amino Acids in Tea from Pu'er and Lingcang Area

LIN Jiaxiong, CHUAN Xianglong, CHEN Chunyue, CAO Xinian, XU Manman, XIAO Han\*

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

**Abstract:** Total free amino acids of 96 tea samples from Pu'er and Lingcang area were determined by national Standard methods to get the diversity of the total amount in different samples. The statistical results showed that tea products from Pu'er contained more amino acids  $(2.24 \pm 1.19)\%$ ,  $n=61$  while tea products from Lingcang had lower but more stabilized amino acids  $(1.99 \pm 0.95)\%$ ,  $n=35$ . None statistical difference were shown in total free between green tea and black tea. Amino acids showed the significant differences between Pu'er ripe tea and others, which suggested Long pile fermentation is the key factor for amino acids contents in tea.

**Key words:** tea; Pu'er area; Lingcang area; tea varieties; total free amino acids

云南地质条件及气候特征适宜茶树生长,全境内有 40.7 万  $\text{hm}^2$  茶园,10 余县区出产茶叶.茶园多种植大叶种茶树,其叶展大,芽头粗壮,香高味浓<sup>[1]</sup>.普洱和临沧两地区是云南茶叶主产地,2014 年两地茶叶总产量占云南省茶叶总产量的 59.57%<sup>[2]</sup>.普洱是我国特产普洱茶的发源地与地理标志地,年均气温为 15.0~20.3  $^{\circ}\text{C}$ ,年无霜期在 315 d 以上,年降雨量 1 100~2 780 mm<sup>[3]</sup>.茶园多为砖红壤土质,pH 值在 4.5~5.5 之间,有机质 2%~5%,是世界大叶种茶叶的“黄金种植地带”.其出产的茶叶口味醇和,经久耐泡.临沧地区地处横断山系怒山山脉南延部分,属滇西纵谷区,亚热带低纬高原

山地季风气候,是普洱茶原产地和滇红茶、大叶种蒸青绿茶的诞生地,气候类型多样,2016 年,全年平均气温 19.4  $^{\circ}\text{C}$ .日照 2 091 h,降雨量 983 mm,相对湿度 75.0%<sup>[4]</sup>.所产茶叶香气劲扬,口感表现稍硬,汤质刚强.

茶叶以饮用茶汤为主,茶汤中茶多酚、游离氨基酸总量(Total Free amino acids, TFAA)、咖啡碱、粗多糖等生化成分<sup>[5]</sup>是茶汤滋味和功效的主要贡献因子.茶游离氨基酸不仅是茶叶有效氨基酸摄入的来源,还可缓和咖啡碱过度兴奋中枢神经的副作用,促进多巴胺的释放,使饮茶者情绪稳定愉悦,此外,其更是茶汤鲜爽口感、独特香气的主要贡献因子,决

收稿日期:2017-05-08

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:林家雄(1996—),男,云南德宏人,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方向的研究, E-mail: black-crossing630@vip.sina.com.

定着茶叶的综合口感及营养价值. 一般认为, 游离氨基酸总量高, 茶叶感官品质好<sup>[6]</sup>. 目前, 茶汤中游离氨基酸已发现 26 种, 其含量(质量分数, 下同)约占茶叶干质量的 2% ~ 5%, 代表性氨基酸—茶氨酸占干物质的 1% ~ 2%<sup>[7]</sup>. 研究表明, TFAA 质量分数与茶叶嫩度和等级<sup>[8]</sup>、树龄<sup>[9]</sup>、采摘期温度<sup>[10]</sup>、干燥温度、发酵期等多项因素有密切关系, 其中鲜叶嫩度与原始 TFAA 呈正相关. 而加工方式干扰 TFAA 后期代谢过程<sup>[11]</sup>.

目前, 茶叶氨基酸测定方法多采用分光光度法, 常见的定量方法有茚三酮比色法、高效液相色谱法和氨基酸分析仪法<sup>[12]</sup>. 茚三酮比色法可直接得到所有游离氨基酸的总量, 而后两种方法通过分离检测各氨基酸组分的质量分数, 加合后得到总量. 虽然后两种方法稳定性好, 灵敏度高, 但均需衍生化显色, 分析周期长于 45 min, 不适于大量样品的快速检测<sup>[13-14]</sup>.

为了解普洱及临沧地区茶叶游离氨基酸总量的基本特征, 本文选用谷氨酸为标样<sup>[15]</sup>, 采用分光光度法测定普洱地区和临沧地区茶叶样品的总游离氨基酸质量分数<sup>[16]</sup>, 并对两地不同加工方式的茶样游离氨基酸特征进行比较分析. 其结果不仅能丰富云南茶叶滋味特征的基础数据, 也能为针对性的开发利用茶鲜叶提供有益参考.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

2014 年 3 月—2014 年 12 月, 通过市场采购的方式获得普洱市所产的茶叶 61 种(其中绿茶 18 种, 编号为 PE-G1 ~ PE-G18; 红茶 8 种, 编号为 PE-B1 ~ PE-B8; 普洱生茶 21 种, 编号为 PE-PE1 ~ PE-PE21; 普洱熟茶 14 种, 编号为 PE-PU1 ~ PE-PU14); 临沧产茶叶 35 种(其中绿茶 3 种, 编号为 LC-G1 ~ LC-G3; 红茶 9 种, 编号为 LC-B1 ~ LC-B9; 普洱生茶 18 种, 编号为 LC-PE1 ~ LC-PE18; 普洱熟茶 5 种, 编号为 LC-PU1 ~ LC-PU5). 茶样经混匀后, 以小包装抽真空后密封避光冷藏.

### 1.2 试剂

标准样品: L-谷氨酸, 1ST1406, 国药集团.

茚三酮, 磷酸氢二钾, 磷酸氢二钠, 抗坏血酸, 均为 AR 级, 广东光华; 实验用水: 三蒸级.

### 1.3 样品前处理

称取研碎至 100 目茶样(红茶、绿茶: 0.50 g; 普

洱生茶、普洱熟茶: 1.50 g) 于 50 mL 比色管中, 加水 45 mL, 立刻放入沸水浴中, 保持 45 min, 过滤洗涤后定容至 50.0 mL.

### 1.4 样品测定

#### 1.4.1 标准曲线制作

移取质量浓度为 1.0 mg/mL 谷氨酸标准液各 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mL 于 25 mL 比色管中, 加入 4.0 mL 水、1.0 mL 2% 茚三酮溶液和 pH8.0 磷酸盐缓冲液 2.0 mL, 沸水浴 15 min, 冷却后定容至 25 mL, 放置 10 min 后, 在 570 nm 处测定吸光度.

#### 1.4.2 样品测定

准确吸取试液 1.0 mL, 注入 25 mL 比色管中, 加入 4.0 mL 水、1.0 mL 2% 茚三酮溶液和 pH8.0 磷酸盐缓冲液 2.0 mL, 沸水浴 15 min, 冷却后定容至 25 mL. 在 570 nm 处测定吸光度.

### 1.5 数据处理

采用 SPSS23.0 进行数据统计, 单因素 ANOVA 法进行方差分析. 可疑值使用平行性实验进行验证.

## 2 结果与讨论

### 2.1 普洱、临沧不同地区 TFAA 质量分数

对以上样品 TFAA 测定结果进行分类统计, 结果见图 1 和表 1.

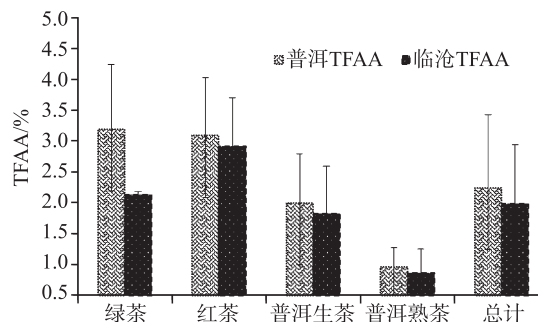


图1 普洱、临沧地区不同制茶品种TFAA值对比

本次测定的 96 个茶样 TFAA 质量分数均数约为 2.16%, TFAA 质量分数偏低, 这主要是普洱熟茶氨基酸质量分数较低产生的拉平效应. 绿茶、红茶、普洱生茶氨基酸质量分数与已有报道接近<sup>[6-11,17]</sup>.

4 类茶叶样品中, 普洱地区茶样 TFAA 质量分数均值顺序为:  $w(\text{绿茶}) > w(\text{红茶}) > w(\text{普洱生茶}) > w(\text{普洱熟茶})$ ; 临沧地区茶样 TFAA 质量分数均值顺序为:  $w(\text{红茶}) > w(\text{绿茶}) > w(\text{普洱生茶}) > w(\text{普洱熟茶})$ . 总体而言, 临沧所产茶叶 TFAA 质量分数较普洱地区低; 普洱地区 TFAA

质量分数以绿茶最高;临沧地区 TFAA 质量分数以红茶最高. 以上情况可能是由于普洱横跨南亚热带,而临沧横跨北亚热带<sup>[18]</sup>;水汽条件的差异及其导致的地表营养素积累对 TFAA 生成的干扰不同导致的. 不同制茶品种中,绿茶、红茶茶氨酸较高,这首先是由于绿茶、红茶多采用芽尖制作,而氨基酸在枝梢质量分数较高. 其次轻度短时杀

青和发酵加工,即使氨基酸的分解酶失活,氨基酸降解也不充分<sup>[19]</sup>. 由此顺序也可推测,芽叶数对 TFAA 的干扰大于加工方式的干扰. 普洱熟茶 TFAA 质量分数最低,其原因可能有两个方面:1)成品无法对芽叶数进行感官判定,部分茶企对原料鲜叶嫩度要求不高;2)加工过程反复的堆渥和长时间的后发酵,使氨基酸持续代谢<sup>[20]</sup>.

表 1 普洱、临沧地区不同制茶品种 TFAA 值概况

地区	制茶类型	<i>n</i>	范围/%	极差/%	平均值/%	<i>RSD</i> /%
普洱	绿茶	18	1.74~5.14	3.40	3.19±1.05	32.92
	红茶	8	1.78~4.44	2.66	3.09±0.94	30.42
	普洱生茶	21	0.50~3.74	3.24	2.00±0.79	39.50
	普洱熟茶	14	0.58~1.62	1.04	0.96±0.31	32.29
	总计	61	0.50~5.14	4.64	2.24±1.19	53.13
临沧	绿茶	3	2.09~2.16	0.07	2.13±0.05	2.35
	红茶	9	2.10~4.62	2.52	2.92±0.78	26.71
	普洱生茶	18	0.62~3.09	2.47	1.83±0.76	41.53
	普洱熟茶	5	0.53~1.52	0.99	0.87±0.38	43.68
	总计	35	0.53~4.62	4.09	1.99±0.95	47.74

比较两地样品 TFAA 质量分数范围极差及 *RSD* 表明,普洱地区变幅均较大,说明普洱地区 TFAA 质量分数差异较大;而临沧地区茶样,特别是熟茶样工艺稳定性较好.

由表 1 可知,普洱地区茶样 TFAA 质量分数范围极差顺序为: $w(\text{绿茶}) > w(\text{普洱生茶}) > w(\text{红茶}) > w(\text{普洱熟茶})$ ;临沧地区茶样 TFAA 质量分数范围极差顺序为: $w(\text{红茶}) > w(\text{普洱生茶}) > w(\text{普洱熟茶}) > w(\text{绿茶})$ ;普洱地区 *RSD*

为:普洱生茶>绿茶>普洱熟茶>红茶;临沧地区 *RSD* 为:普洱熟茶>普洱生茶>红茶>绿茶. 考虑到茶氨酸质量分数受地域、品种、嫩度、加工方式等多重因素影响,较高的变异系数说明茶企业有必要研究种植环境和加工工艺,并重视质量监控.

2.2 不同加工方式产品方差分析结果

对普洱地区和临沧地区不同加工方式的茶样进行方差分析,其差异性结果汇总于表 2.

表 2 普洱、临沧地区不同制茶品种方差分析结果

普洱地区	绿茶	红茶	普洱生茶	临沧地区	绿茶	红茶	普洱生茶
红茶	1.000			红茶	0.166		
普洱生茶	0.005**	0.127		普洱生茶	0.578	0.001**	
普洱熟茶	0.000**	0.004**	0.000**	普洱熟茶	0.044*	0.000**	0.013*

注:1)方差齐时采用 LSD 法,方差不齐时采用 Tamhane 法进行分析.2) $P < 0.05$  为差异有统计学意义,标记为\*; $P < 0.01$  为差异有高度统计学意义,标记为\*\*.

由表 2 可知,TFAA 在两个地区中,绿茶—红茶差异均无统计学意义,这可能说明短时发酵工艺不是总氨基酸降解的关键因素. 王云等<sup>[21]</sup>也认为,半烘炒工业对茗茶多种氨基酸组分的保留、形成和发展有利. 普洱熟茶与其他茶种间均

体现了差异有统计学意义,这可能说明长时间堆渥后发酵对 TFAA 的影响更为显著. 整体而言,TFAA 在不同茶种间差异较为明显,对于长时间发酵也较为敏感,可作为加工方式、后发酵时间的辅助判定指标.

### 3 结论

1) 对普洱地区 61 个茶叶样品、临沧地区 35 个茶叶样品游离氨基酸总量进行测定, 其均值分别为  $(2.24 \pm 1.19)\%$ ,  $(1.99 \pm 0.95)\%$ , 与以往报道相当, 但其质量分数变幅较大。

2) 普洱地区茶叶总游离氨基酸质量分数普遍高于临沧地区, 这可能与当地地理环境有关。但临沧地区茶样变幅较小, 质量较为稳定。

3) 总氨基酸质量分数在绿茶—红茶间差异无统计学意义, 在普洱熟茶与其他茶种间差异均有统计学意义, 说明长时间堆渥发酵是游离氨基酸质量分数的关键影响因素。

4) 总游离氨基酸质量分数是茶叶鲜甜口感的指征, 但由于氨基酸组分复杂, 各氨基酸甜度、苦味、香气不一, 而进一步对氨基酸组分进行测定和分类统计应能得到更具指向性的结论。

### 【参考文献】

- [1] 曾敏. 古树普洱生茶特征风味的化学基础研究[D]. 重庆: 西南大学, 2015.
- [2] 中国茶叶流通协会. 2015 年全国普洱茶产销形势分析报告[EB/OL]. [2017-01-20]. <http://www.puer.cn/puerchanews/scdx/82530.html>.
- [3] 普洱市人民政府. 普洱简介[EB/OL]. [2017-02-10]. <http://puer.tianqi.com/city.html>.
- [4] 临沧新闻网. 临沧市 2016 年国民经济和社会发展统计公报[EB/OL]. [2017-02-15]. <http://www.lincangnews.cn/index.php?m=content&c=index&a=show&catid=13&id=6034>.
- [5] 王淑慧, 龙立梅, 宋沙沙, 等. 3 种名优绿茶的特征滋味成分研究及种类判别[J]. 食品科学, 2016, 37(2): 128-131.
- [6] 邵济波, 唐茜, 周晓兰, 等. 四川引种安吉白茶主要生化成分分析[J]. 食品科学, 2012, 33(16): 179-83.
- [7] 赵明明, 金钰, 胡筱波, 等. 基于氨基酸特征分析的西湖龙井茶鉴别方法研究[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(24): 6369-6371.
- [8] 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(4): 24-26.
- [9] 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.
- [10] 田野, 王梦馨, 王金和. 茶鲜叶可溶性糖和氨基酸含量与低温的相关性[J]. 茶叶科学, 2015, 35(6): 567-573.
- [11] 黄怀生, 赵熙, 银霞, 等. 基于主成分分析的保靖黄金茶加工过程中氨基酸动态变化研究[J]. 茶叶通讯, 2014, 41(3): 15-19.
- [12] 倪君, 须海荣. 茶叶氨基酸检测方法的研究进展[J]. 茶叶, 2007, 33(2): 63-66.
- [13] WANG Y Y, YANG X R, LI K K, et al. Simultaneous determination of theanine, gallic acid, purine alkaloids, catechins, and theaflavins in black tea using HPLC[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2010, 45: 1263-1269.
- [14] 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.
- [15] 马雪珑, 邹鹏飞, 王荡强. 茶中游离氨基酸测定标样的选择[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 61-66.
- [16] 中国国家标准化管理委员会. 茶游离氨基酸总量的测定: GB/T 8314—2013[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [17] HORANNI R, ENGELHARDT U H. Determination of amino acids in white, green, black, oolong, pu-erh teas and tea products[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2013, 31: 94-100.
- [18] 云南植被编写组. 云南植被[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [19] 姜东华, 陈保, 张怀志. 不同加工工艺紫娟茶中氨基酸及微量元素的比较研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(4): 872-902.
- [20] 陈小强, 叶阳, 成浩, 等. 三类茶中茶氨酸、咖啡碱及多酚类的比较分析[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(12): 141-144.
- [21] 王云, 李春华. 名优茶氨基酸含量变化规律及其影响因素研究[J]. 西南农业学报, 2006, 19(6): 1121-1125.