

# 固相微萃取法分析凤凰单枞乌龙茶香气组分

苏新国<sup>1,2</sup>, 蒋跃明<sup>2</sup>, 汪晓红<sup>3</sup>, 段俊<sup>2</sup>, 宓穗卿<sup>1</sup>, 王宁生<sup>1</sup>

(1. 广州中医药大学 临床药理研究所, 广东 广州 510405; 2. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650 3. 马鞍山红星中学, 安徽 马鞍山 243000)

**摘 要** 本文以凤凰单枞乌龙茶(*Camellia sinensis*)为材料, 采用固相微萃取(Solid Phase Microextraction, SPME)对其呈香组分进行研究。结果表明采用 SPME 萃取凤凰单枞乌龙茶香气组分, 从桂花香型乌龙茶干茶样中检测出 41 种香气组分, 而 SDE 法则检测到 55 种香气组分, 两种方法都检测出高比例的芳樟醇、橙花叔醇、茉莉酸甲酯和吲哚。SPME 法萃取了乌龙茶自身散发出的香气组分, 避免了茶叶中易挥发或热不稳定的香气组分被破坏, 减少了香气组分的测定误差和不稳定性。

**关键词** 凤凰单枞乌龙茶; 固相微萃取; 香气组分

## Application of Solid Phase Microextraction on the Oolong Tea (*Camellia sinensis* cv. Fenghuangdancong) Aroma Analysis

SU Xin-guo<sup>1,2</sup>, JIANG Yue-ming<sup>2</sup>, WANG Xiao-hong<sup>3</sup>, DUAN Jun<sup>2</sup>, MI Sui-qing<sup>1</sup>, WANG Ning-sheng<sup>1</sup>

(1. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Institute of Clinical Pharmacology, Guangzhou 510405, China 2. South China Botanic Garden, The Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China 3. Middle School of Red Star, Maanshan 243000, China)

**Abstract:** Oolong tea (*Camellia sinensis*), native to China, is a semi-fermentation with a good pleasant, fragrant and sweet taste. The aroma compounds, collected by solid-phase microextraction (SPME) and simultaneous distillation extraction (SDE), were investigated. The major results are as follows: Using SPME, 41 kinds of aroma compounds of Fenghuangdancong Oolong tea cvs. Guihua were identified, whereas 55 aroma compounds by SDE were determined, respectively. The major aroma compounds collected by both SPME and SDE were linalool, nerolidol, methyl jasmonate and indole. SPME exhibited advantages in collecting actual aroma compounds, preventing the breakdown of these aroma heat-instable aroma compounds and maintaining a good analytical stability.

**Key words:** Oolong tea; solid phase microextraction (SPME); aroma compounds

中图分类号 207.3

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)11-0213-04

广东省潮州市凤凰镇是我国重要的单枞乌龙茶生产基地。因单枞茶茶树品种、芽叶幼嫩程度不同和采制上的差异, 形成了外形有差异, 香气和滋味有区别的单枞名茶; 实践中经常会产生同一茶树在不同的年份或季节中, 制作出不同的香型的单枞茶<sup>[1]</sup>。分析茶叶香气组分的第一步是茶叶香气的提取。由于茶叶香气含量低微、组成复杂、易挥发、不稳定, 在提取过程中易发生氧化、聚合、缩合、基团转移等反应。因此, 茶叶香气需要采取特殊的分离和提取方法, 其直接关系

到茶叶香气组分的定性和定量结果<sup>[2]</sup>。在前人研究中, 基本上是以水蒸汽蒸馏法(SDE)提取茶叶的香精油再进行分析<sup>[3,4]</sup>。但是采用 SDE 法时, 由于样品长时间处于高温高湿的环境, 使得香精油含量和比例变化较大, 因此不能真实地反映样品中香气组分的实际构成<sup>[4,5]</sup>。一些学者还认为植物中所含的香精油与感官审评中所感受的香气组分应该有所区分<sup>[6]</sup>; 不过, 哪些香气组分在乌龙茶感官审评中, 起到主要或特征呈香作用至今尚未见相关报道。

收稿日期: 2005-07-18

基金项目: 中国科学院农委重点项目(2002—2004)

作者简介: 苏新国(1977-), 男, 博士后, 主要从事天然产物化学及其药理作用研究。

本论文分别以 SPME 和 SDE 法萃取桂花香型凤凰单枞乌龙茶成品茶中的香气组分, 对比不同的香气提取方法分析乌龙茶香气的差异, 研究凤凰单枞乌龙茶香气组分的实际构成, 同时也为 SPME 法在微量香气成分分析和鉴定中的应用提供实验参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及取样方法

实验所用桂花香型凤凰单枞乌龙茶(*Camellia sinensis* cv. Fenghuangdancong)成茶样品于2004年4月4~8日采自潮州市凤凰镇凤溪村(海拔785~842米, 属于中高山优秀茶区)。乌龙茶制作按照传统凤凰单枞制法: 采样后晒青2h左右, 接着晾青4h, 每隔2h碰青15min, 前后共碰青5次; 180~200℃杀青锅中杀青10min, 接着机械揉捻20min, 然后200℃热风烘15min; 再用100℃热风复烘2h。成茶干样用隔气聚丙烯茶叶袋密封, 贮藏于4℃冷库中待用。5d内分别用SDE和SPME法提取和分析样品香气组分。

### 1.2 SDE法制备乌龙茶叶的内含香精油

取凤凰单枞乌龙茶成茶干样50g, 剪碎后置于SDE装置的2000ml圆底烧瓶中, 加入1000ml沸腾的重蒸水, 采用套式恒温器加热, 保持微沸; 萃取瓶中加入100ml纯化三氯甲烷, 其中加入100μl 0.2μg/L 癸酸乙酯(内标物), 保持50℃水浴, 提取90min。提取液经过5g无水硫酸钠干燥过夜后, 用KD浓缩器浓缩至0.2ml, 所得内含香精油在-4℃低温下保存于玻璃毛细管中, 供分析用<sup>[7]</sup>。

### 1.3 SPME法萃取乌龙茶叶的感官香气

采用Supelco公司生产的SPME手持器(57330-U), 吸附纤维为非结合型PDMS(聚二甲基硅氧烷), 涂层厚度为100μm。将凤凰单枞乌龙茶成茶样品分别剪碎, 精确称取10g, 放入100ml具塞三角瓶中, 用四氟乙烯密闭瓶口, 40℃下静置2h, 然后将SPME手持器插入三角瓶中, 吸附30min, 在8h内上GC-MS进行分析<sup>[8]</sup>。

### 1.4 GC-MS分析条件

气相色谱仪为岛津GC-17A(30m×0.25mm DB-17石英毛细管柱), 质谱仪为岛津QP-5000型。实验条件设置为: 40~250℃, 2℃/min升温速率, 载气为He, 流速为1ml/min, 电子倍增管电压为2500V, 轰击能量为70eV, 离子源温度为200℃, 总离子流强度为110mA, 电流方式为EI。SDE法提取得到的香精油样直接进样1μL; 而采用SPME法, 则直接将SPME手持器插入气相色谱仪进样口, 推出纤维, 于250℃解吸

2min, 同时启动仪器采集数据。

### 1.5 定性和定量

利用NIST及WILEY两个谱库对得到的质谱图进行串连检索。以各香气组分的峰面积占总面积之比值表示组分相对含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 桂花香型凤凰单枞乌龙茶内含香精油和感官香气的变化

从固相微萃取法(SPME)萃取的桂花香型凤凰单枞乌龙茶香气组分和水蒸气同时蒸馏法(SDE)所得到的香精油的GC-MS总离子色谱图(图略)中看出, 50min后即可将香气组分基本检测完毕。

表1中列出了采用SPME和SDE两种方法共鉴定出桂花香型凤凰单枞乌龙茶64种主要香气组分及其相对含量。采用SPME萃取的成茶感官香气共有41种, 含量较高的是十二烷(6.84%)、十三烷(3.78%)、2,6-双(1,1-二甲基乙基)苯酚(3.66%)、5-乙基庚醇(24.94%)、十六酸(13.13%)、芳樟醇(8.12%)、苯甲醇(1.42%)、苯乙醇(1.62%)、乙烯基苯甲酸酯(1.81%)、博伏内酯(1.43%)、橙花叔醇(6.76%)、茉莉酮酸甲酯(2.24%)和吲哚(2.14%), 这13种香气组分的含量占香精油总量的77.89%; 而采用SDE法提取的香精油中共有55种香气组分, 含量较高的有芳樟醇(5.89%)、6-辛基-2-酮(3.17%)、壬醇(1.94%)、α-萜品醇(2.81%)、香叶醇(7.04%)、2,4-庚二烯醛(3.30%)、己酸-3-己烯酯(3.30%)、苯甲醇(5.03%)、博伏内酯(2.41%)、橙花叔醇(7.80%)、茉莉酮酸甲酯(2.20%)、茶螺烯酮(2.30%)、茉莉内酯(2.02%)、二氢海葵内酯(2.20%)、十六酸甲酯(3.44%)、植醇(2.20%)和9,12-十八碳二烯酸(4.50%), 这17种香气组分占香精油总量的61.34%。

两种提取方法所检出的香气组分中均含有较高比例的芳樟醇、橙花叔醇、茉莉酸甲酯和吲哚, 但SPME萃取的高含量的烷烃类组分在SDE提取的香精油中却未有检出。特别是采用SDE法检测出四种芳樟醇氧化物, 其含量占总量的3.79%, 而在SPME法提取的香气组分中却都未有检出。

对比乌龙茶的感官香气和香精油中的香气组分, SPME萃取的香气组分中有9种组分未在香精油中发现, 它们基本是位于图谱前半部分, 属于较易挥发的化合物, 其中包括高含量的烷烃类物质; 这可能由于SPME法类似顶空富集吸附法, 更易萃取顶空中易挥发的香气组分<sup>[9]</sup>。采用SDE法提取香精油中也有23种组分未在

表1 桂花香型凤凰单枞乌龙茶成茶感官香气和内含精油组分及其含量

Table 1 Compounds and concentration of aromas of extract of Fenghuangdancongoolong tea cv.Guihua by SPME and SDE

检测号	香气组分	含量(%)	
		SPME	SDE
1	1-戊烯-3-醇	0.42	0.78
2	3-己烯-1-醇	1.03	1.10
3	十二烷	6.84	—
4	庚醛	1.01	0.53
5	十三烷	3.78	—
6	(E)-2-己烯醛	0.43	0.61
7	苯甲醛	0.46	0.31
8	2-戊基呋喃	0.24	0.43
9	正戊醇	0.50	—
10	$\beta$ -香叶烯	0.31	0.43
11	$\alpha$ -蒎品烯	0.61	0.53
12	(Z)-2-戊烯-1-醇	0.14	0.43
13	2,6-双(1,1-二甲基乙基)苯酚	3.66	—
14	2,5-二甲基吡嗪	0.12	0.65
15	己醇	0.87	—
16	(Z)-3-己烯-1-醇	0.86	—
17	三甲基吡嗪	0.74	—
18	5-乙基庚醇	24.94	—
19	十六酸	13.13	—
20	芳樟醇氧化物I	—	1.40
21	芳樟醇氧化物II	—	1.31
22	芳樟醇	8.12	5.89
23	辛醇	1.01	1.38
24	苯甲酸甲酯	—	1.23
25	6-辛烯-2-酮	—	3.17
26	3,7-二甲基-1,5,7-辛三烯-3-醇	0.92	0.78
27	(Z)-3-己烯酸己烯	—	1.67
28	壬醇	0.74	1.94
29	$\alpha$ -蒎品醇	—	2.81
30	柠檬醛	—	1.21
31	芳樟醇氧化物III	—	0.61
32	$\alpha$ -法呢烯	0.12	0.78
33	芳樟醇氧化物IV	—	0.47
34	香叶醇	0.45	7.04
35	(E,E)-2,4-庚二烯醛	1.02	3.30
36	己酸-3-己烯酯	—	3.30
37	苯甲醇	1.42	5.03
38	$\beta$ -紫罗酮	0.61	2.64
39	癸酸乙酯	—	1.49
40	2-苯乙醇	1.62	5.30
41	苜基甾	0.56	1.36
42	$\beta$ -紫罗酮+(Z)茉莉酮	—	1.36
43	苯乙基丁酸	—	1.75
44	乙酰吡咯	0.13	0.53
45	雪松醇	—	1.18
46	(Z)-3-己烯基苯甲酸酯	1.81	0.87
47	法呢醇	0.51	1.63
48	博伏内酯	1.43	2.41
49	壬酸	—	0.97
50	橙花叔醇	6.76	7.80
51	茉莉酮酸甲酯	2.23	2.20
52	茶螺烯酮	0.53	2.30
53	茉莉内酯	0.14	2.02
54	癸酸	—	0.89

续上表

检测号	香气组分	含量(%)	
		SPME	SDE
55	二氢海葵内酯	0.87	2.20
56	吲哚	2.14	0.65
57	蒎烯	—	0.42
58	4-甲基十五酸甲酯	—	0.75
59	十六酸甲酯	—	3.44
60	E,E-亚油酸甲酯	—	1.31
61	Z,Z,Z- $\gamma$ -亚麻酸甲酯	—	0.71
62	植醇	0.89	2.20
63	Z,Z-9,12-十八碳二烯酸	—	4.50
64	9-十八碳烯酸	—	0.89

注 a. - 为该化合物未被检出。

SPME 法萃取的香气组分中检测到,但大部分是位于图谱的后半部分,属于较不易挥发的组分,这表明虽然SDE 法能很好地萃取茶叶中的香气组分,但是在长时间高温、高湿提取过程中,较多的挥发性香气组分散失或转化了。这些散失或转化的化合物包括十二烷(6.84%)、十三烷(3.78%)、2,6-双(1,1-二甲基乙基)苯酚(3.66%)、5-乙基庚醇(24.94%)和十六酸(13.13%),共占SPME 萃取香气组分的52.35%。另外,Mitsuya 等人<sup>[4]</sup>发现采用SDE 法提取的香气具有特殊的水闷味,并且带有绿茶所不具有的木质味;其香精油具有显著的收敛性和刺激性。

### 3 讨 论

茶叶中香气组分比较复杂,选用不同的提取方法所检出的香气组分也不尽相同;因此,一般认为分析茶叶中所有的香气组分最能确切地了解茶叶本身的香气特征<sup>[10]</sup>。目前对茶叶香气组分提取多采用SDE 法,其原理是利用水蒸气的蒸发过程,将茶叶中的香气组分带出,然后用有机溶剂(乙醚或三氯甲烷)进行吸收,制得香精油,再对香精油中的香气组分进行分析<sup>[11]</sup>,除了能制得浓度很高的香气物质以外,还可以通过加入癸酸乙酯等内标物对制得香精油中的香气组分进行定量分析<sup>[12]</sup>。

但采用SDE 法提取需要高温、高湿的密闭条件,茶叶中香气组分在此密闭条件下提取,易发生散失、降解等反应,如一些不饱和脂肪酸氧化降解生成脂肪族醇、醛类物质,糖苷类化合物水解释放单体等<sup>[13]</sup>。并且对于挥发性香气组分的提取,SDE 法无能为力。虽然顶空吸附法或减压蒸馏萃取法可提取茶叶的挥发性香气组分,但是却存在着耗用样品量大、时间长、检测限过高等弊病<sup>[2]</sup>。采用SPME 法能较好提取桂花香型凤凰单枞乌龙茶的香气组分,这些香气组分包括高含量的烷烃类物质,这是采用SDE 法所未检测到的。乌龙茶

制作过程中,其香气组分中的烷烃类化合物一直存在,但相对含量逐渐减少,这可能与其它香气组分逐渐增多有关(数据待发表)。SPME 萃取桂花香型凤凰单枞乌龙茶香气组分的研究还进一步支持了橙花叔醇、芳樟醇、茉莉酸甲酯和吲哚这些物质都是乌龙茶中的香气重要组分;而不同乌龙茶的香气特点可能是由于这些呈香组分不同的比例所决定的<sup>[14]</sup>。

由于香气是乌龙茶品质的重要指标<sup>[15]</sup>,但在实际香气审评中主要靠感官进行,难以量化。在本实验中,通过 SPME 法已成功萃取和检测凤凰单枞乌龙茶中主要香气组分及其相对含量;这样,可为乌龙茶品质审评的量化提供重要理论依据。

#### 参考文献:

- [1] 梁祖文. 潮州茶叶志 [M]. 潮州市林业志编写组, 1986.
- [2] 朱旗, 施兆鹏, 任春梅. 绿茶香气不同提取方法的研究 [J]. 茶叶科学, 2001, 1: 38-43.
- [3] Mosandl A. Capillary gas chromatography in quality assessment of flavours and fragrances [J]. Chromatography A, 1992, 624: 267-292.
- [4] Mitsuya S, Hiroko S, Hideki S. Comparison of the odour concentrates by SDE and adsorptive column method from green tea infusion [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995a, 43: 1616-1620.
- [5] 谢建春, 孙宝国, 刘玉平, 郑福平. 固相微萃取再食品香味分析中的应用 [J]. 食品科学, 2003, 24(8): 229-233.
- [6] Miller KG, Pode CF, Pawlowski TMP. Classification of the botanical origin of cinnamon by Solid-Phase Microextraction and gas chromatography [J]. Chromatography A, 1996, 42: 639-646.
- [7] Thomas HS, Robert AFT, Richard M. Isolation volatile components from a model system [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1977, 25(3): 446-449.
- [8] Song J, Gardner BD, Holland JF, Beaudry RM. Rapid analysis of volatile flavor compounds in apple fruit using SPME and GC/time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45: 1801-1807.
- [9] Matich AJ. Solid Phase Microextraction for quantitative headspace sampling of apple volatiles [J]. Analytical Chemistry, 1996, 68: 4114-4118.
- [10] 叶乃兴. 乌龙茶香气成分研究进展 [J]. 福建茶叶, 1988, (2): 25-26.
- [11] Habu T, Flath RA, Mon TR. Volatile components of Rooibos tea (*Aspacathus linearis*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1985, 33(2): 249-254.
- [12] Yamaguchi K, Shibamoto T. Volatile constituents of green tea, Gyokuro (*Camellia sinensis* L. var Yabukita) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1991, 20: 366-370.
- [13] Mitsuya S, Hiroko S, Hideki S. Compounds among different grade of green tea and their relation to odour attributes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995b, 43: 1621-1625.
- [14] 戴素贤, 谢赤军, 陈栋, 郑如钦, 谢振伦. 七种高香型乌龙茶香气成分的主成分分析 [J]. 华南农业大学学报, 1999, 20(1): 113-117.
- [15] 龚淑英, 顾志蕾. 两种不同乌龙茶审评方法香气与滋味的比较 [J]. 茶叶科学, 2001, 21(2): 166-169.

欢迎订阅2006年

## 《山西食品工业》

《山西食品工业》是山西省食品工业研究所、山西省食品工业协会、山西省食品科学技术学会、山西省食品工业科技情报站、山西食品生物工程中心共同编辑出版的食品专业技术类刊物。1973年创刊,国内统一刊号为CN-11-1202/TS。《山西食品工业》以实用技术为主,报道国内外食品工业发展的新动向、新成果、新技术、新产品、新设备、新材料;主要栏目有:基础研究、应用研究、工艺技术、综述评论、食品分析、食品与健康、企业风采、食事资讯等;提供食品行业广告信息。

《山西食品工业》为大16开,季刊,每期定价6.80元,全年定价27.20元。凡漏订者可随时通过邮汇(信汇)与《山西食品工业》编辑部联系补订。

地址: 山西省太原市晋祠路一段19号

邮编: 030024

电话: 0351-6172474 6064116-8003

联系人: 胡红娟 刘春连

邮汇: 请在邮汇通知“附言”栏内写清订阅份数。

信汇: 开户行: 工行万支

帐号: 0502126009024913384

收款单位: 山西省食品工业研究所