

# 渥堆发酵过程中藏茶化学成分的变化

## Changes of chemical components of Tibetan tea during pile fermentation process

邓俊琳<sup>1</sup> 何扬航<sup>2</sup> 陈建<sup>1</sup> 刘刚<sup>2</sup> 夏陈<sup>1</sup>

DENG Junlin<sup>1</sup> HE Yanghang<sup>2</sup> CHEN Jian<sup>1</sup> LIU Gang<sup>2</sup> XIA Chen<sup>1</sup>

(1. 四川省农业科学院农产品加工研究所, 四川 成都 610066; 2. 四川师范大学生命科学学院, 四川 成都 610066)

(1. Institute of Agro-products Processing Science and Technology, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu, Sichuan 610066, China; 2. College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu, Sichuan 610066, China)

**摘要:**目的: 阐明藏茶渥堆过程主要化学成分的变化规律。方法: 以不同发酵阶段藏茶样为原料, 研究发酵过程中藏茶水提物中可溶性固形物、可溶性糖、总多酚、总黄酮含量及水提物体外抗氧化活性的变化, 并应用超高效液相色谱仪检测水提物中茶碱、咖啡碱、没食子酸和 8 种儿茶素类单体的含量, 应用酶联免疫法测定水提物中茶黄素、茶红素和茶褐素的含量。结果: 藏茶发酵过程中可溶性固形物含量先降低后略有回升, 可溶性糖、总多酚、总黄酮含量逐渐降低, 抗氧化活性逐渐减弱, 咖啡碱呈波动状态且变化较小, 没食子酸与儿茶素含量先上升再略有下降, 没食子儿茶素没食子酸酯与表儿茶素含量先升高后降低, 没食子儿茶素、表没食子儿茶素、表儿茶素没食子酸酯和表没食子儿茶素没食子酸酯含量均呈持续下降的状态, 其中表没食子儿茶素没食子酸酯在黑毛茶中含量为 39.69 mg/g, 在成品茶中降至 1.36 mg/g; 茶红素含量先增加后降低, 茶黄素含量变化很小, 茶褐素含量逐渐升高(黑毛茶中 3.12 g/100 g, 成品茶中 7.46 g/100 g)。结论: 藏茶渥堆发酵过程中, 可溶性糖、总多酚、总黄酮等含量降低, 抗氧化活性减弱, 茶碱、咖啡碱、儿茶素类单体等活性成分含量的变化趋势不一致, 茶褐色含量逐渐升高。

**关键词:** 藏茶; 渥堆发酵; 抗氧化; 化学成分; 茶褐素

**Abstract:** **Objective:** The changes in the main chemical components in water extracts of Tibetan tea during the pile fermentation process were investigated. **Methods:** Research was done on tea samples and water extracts from various fermentation stages of Tibetan tea. Soluble solids, soluble sugars, total polyphenols, total flavonoids, and in vitro antioxidant activity (ABTS and DPPH) were all examined. Additionally, ultra-performance liquid chromatography (UPLC) was used to find theophylline, caffeine, gallic acid (GA), and 8 catechins monomers. By using enzyme-linked immunoassay, the amount of theaflavin, thearubigin, and theabrownin were determined. **Results:** The soluble solids in Tibetan tea reduced and then slightly increased during the fermentation process. The amount of soluble sugar, total polyphenols, and total flavonoids and the antioxidant activity decreased gradually. Caffeine showed a fluctuating state with small changes, the amount of GA and catechin (C) increased and then slightly decreased. Epicatechin (EC) and (gallocatechin gallate) GCG concentration increased and then decreased. Gallocatechin (GC), epigallocatechin (EGC), epicatechin gallate (ECG), and epigallocatechin gallate (EGCG) levels all showed a consistent reduction. The EGCG decreased from 39.69 mg/g in the initial tea to 1.36 mg/g in final product. The amount of theaflavin first climbed and then slightly dropped, the amount of thearubigin changed slightly, and the amount of theabrownin progressively increased (3.12 g/100 g in the original tea, 7.46 g/100 g in the completed tea). **Conclusion:** The changes in main chemical components during the fermentation process of Tibetan tea were revealed. These results might serve as guidelines for processing and quality control of Tibetan tea.

**Keywords:** Tibetan tea; pile fermentation; antioxidant; chemical components; theabrownin

**基金项目:** 四川省农业科学院 1+9 科技攻关项目(编号: 1+9KJGG007); 四川省科技计划资助重点研发项目(编号: 2023YFN0012); 四川省科技计划资助重点研发项目(编号: 2019YFN0178)

**作者简介:** 邓俊琳, 女, 四川省农业科学院农产品加工研究所助理研究员, 硕士。

**通信作者:** 刘刚(1968—), 男, 四川师范大学副教授, 博士。  
E-mail: rh682@sohu.com

夏陈(1983—), 男, 四川省农业科学院农产品加工研究所副研究员, 硕士。E-mail: 154541462@qq.com

收稿日期: 2022-10-20 改回日期: 2023-07-27

藏茶是典型的黑茶产品,富含多酚、多糖、微量元素、茶碱、茶褐素等活性成分<sup>[1]</sup>,具有抗氧化、降血脂和降血糖等功效<sup>[2-3]</sup>。

黑茶的品质形成主要在渥堆发酵过程中,该过程中在自身湿热作用、微生物的酶促作用以及微生物呼吸代谢产生的热量等的协同作用下,茶叶发生了复杂的生物化学变化,最终形成了黑茶特有的品质特征<sup>[4-5]</sup>。四川藏茶使用的黑毛茶原料是小叶或者中叶绿茶,生产工艺在传统黑茶发酵工艺的基础上大幅改进,这些改进使藏茶在风味、品质等方面与其他黑茶有较大差异性,但渥堆发酵始终是藏茶生产的核心工序。目前关于藏茶的研究大多集中在成品茶中活性成分鉴定与功能的研究,对渥堆发酵过程中活性成分的变化还鲜有报道。研究拟对渥堆过程中藏茶水提物中可溶性固形物、可溶性糖、总多酚、总黄酮含量及水提物体外抗氧化活性进行测定,并研究水提物中茶碱、咖啡碱、没食子酸和 8 种儿茶素类单体、茶黄素、茶红素和茶褐素含量变化,以期阐明藏茶渥堆过程中主要化学成分的变化规律,以及探讨其对藏茶品质形成的可能影响,将有助于改进藏茶渥堆发酵工艺并控制藏茶品质。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

藏茶:特级金花藏茶(302 型黑毛茶特制),雅安市雅州恒泰茶业有限责任公司。

### 1.2 试剂与仪器

福林酚试剂、没食子酸、芦丁:分析纯,上海研生生化试剂有限公司;

Trolox:上海陶术生物科技有限公司;

表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)标准品:纯度 $\geq 98\%$ ,上海源叶生物科技有限公司;

没食子酸(GA)、没食子儿茶素(GC)、儿茶素(C)、表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素(EC)、没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)、儿茶素没食子酸酯(CG)标准品:纯度 $\geq 98\%$ ,北京索莱宝科技有限公司;

咖啡碱(Caffeine)标准品:纯度 $\geq 98\%$ ,成都普菲德生物技术有限公司;

多功能酶标仪:3000FA 型,上海闪谱生物科技有限公司;

高效液相色谱仪:1290 型,美国 Agilent 公司;

优普系列超纯水机:UPC-1-10T 型,成都超纯科技有限公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 茶叶取样 2020 年 4 至 8 月,在金花藏茶发酵过程中选取 7 个关键节点采样:初制黑毛茶(MC),渥堆发

酵第 1 次翻堆 7 d(S1),第 2 次翻堆 14 d(S2),第 3 次翻堆 23 d(S3),第 4 次翻堆 31 d(S4),第 5 次翻堆 45 d(S5),干燥后的金花藏茶成品(S6)。每次在茶堆翻堆补水前取样,取茶堆上层、中层以及底层的由外到内 30~50 cm 处茶叶,每层 3 个点各取 200 g 混匀成为一个样品,所有样品封装于无菌袋用冰盒带回实验室,冻藏于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

1.3.2 藏茶水提物制备 样品经 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干、粉碎过 80 目筛,称取一定量粉末 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水提 2 h,过滤定容,待测。

#### 1.3.3 藏茶水提物成分检测

(1) 可溶性糖含量:按照 GB/T 8305—2013 方法测定水浸出物含量,采用蒽酮—硫酸法测定可溶性糖含量<sup>[6]</sup>,待测液加入 6 mL 硫酸蒽酮溶液(精密称取蒽酮 0.1 g,加硫酸 100 mL 溶解,摇匀),立即摇匀,放置 15 min,立即置冰浴中冷却 15 min,于 625 nm 处测定吸光值,以葡萄糖含量(mg/g)为横坐标,吸光值为纵坐标绘制标准曲线, $y=0.038 1x+0.066 1$ , $R^2=0.997 8$ ,线性范围 0.81~52.125 mg/g。

(2) 总多酚含量:采用福林酚法<sup>[7]</sup>,20  $\mu\text{L}$  待测液中加入 20  $\mu\text{L}$  福林酚试剂,混匀静置 5 min,加入 80  $\mu\text{L}$  10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液,室温避光反应 60 min,于 765 nm 处测吸光值。以没食子酸溶液的质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线。没食子酸线性回归方程为  $y=0.006 6x+0.057 5$ , $R^2=0.999 9$ ,线性范围 3.906~500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

(3) 总黄酮含量:采用  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$  比色法<sup>[8]</sup>,20  $\mu\text{L}$  待测液中加入 10  $\mu\text{L}$  25 mg/100 mL  $\text{NaNO}_2$  反应 6 min,再加入 10  $\mu\text{L}$  10%  $\text{AlCl}_3$  反应 5 min,加入 30  $\mu\text{L}$  1 mol/L NaOH,再加入 100  $\mu\text{L}$  蒸馏水,于 510 nm 处测吸光值,以芦丁溶液的质量浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线,芦丁线性回归方程为  $y=0.000 8x+0.043 4$ , $R^2=0.999$ ,线性范围 0.057~0.387  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

(4) DPPH 自由基清除测定:参照文献[9]将水提物稀释成不同浓度梯度,加入等体积 0.2 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液,室温静置 30 min 后于 517 nm 测吸光值,按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$C = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

C——自由基清除率,%;

$A_0$ ——空白对照组 OD 值;

$A_1$ ——样品组 OD 值。

(5) ABTS 自由基清除测定:取不同浓度梯度的待测液,加入适量 ABTS 溶液( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  溶液和 ABTS 溶液混

合配制,混合液中  $K_2S_2O_8$  浓度为 2.45 mmol/L, ABTS 浓度为 7 mmol/L, 混合液室温下避光放置 16 h, 再用 pH 7.0 的 PBS 缓冲液稀释至 734 nm 处吸光值为 0.7 ± 0.02 备用), 避光反应 6 min 于 734 nm 处测定吸光值, 按式(1)计算 ABTS 自由基清除率。

1.3.4 儿茶素单体、茶碱和咖啡碱测定 采用超高效液相色谱法<sup>[10]</sup>。茶碱、咖啡碱、没食子酸与 8 个儿茶素单体的标准品 20 mg, 分别用甲醇溶解并定容至 5 mL 作为标准品母液, 以二倍稀释法制备不同浓度梯度标准品溶液, 以质量浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得线性方程如表 1 所示。

表 1 茶碱、咖啡碱、儿茶素等的测定标准曲线

Table 1 The regression equation and linear range of the theophylline, caffeine and catechins

成分名称	线性回归方程	$R^2$	线性范围/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
茶碱	$y=8.887\ 8x+4.789\ 9$	0.999	4.9~784.0
咖啡碱	$y=8.315\ 5x+10.105$	0.999	6.8~435.5
GA	$y=9.261\ 4x-0.811\ 8$	0.999	4~500
C	$y=2.059\ 3x-0.564\ 3$	0.999	6.8~435.5
EC	$y=2.445\ 4x+7.795$	0.999	4~500
GC	$y=0.702x+0.066\ 1$	0.999	1.72~450.00
EGC	$y=0.646\ 8x+1.247\ 5$	0.999	6.8~435.5
CG	$y=5.465\ 3x+1.822\ 4$	0.999	6.8~217.7
ECG	$y=5.051\ 3x+3.469\ 5$	0.999	5.6~784.0
GCG	$y=4.712\ 6x-6.444\ 4$	0.999	4~500
EGCG	$y=4.769\ 7x-8.309\ 2$	0.999	4~500

1.3.5 茶色素含量测定 根据 Wang 等<sup>[11]</sup>的方法, 修改如下: 取 3 g 茶叶于 125 mL 锥形瓶中, 加入 125 mL 沸水, 摇匀, 沸水浴 10 min(水浴期间摇瓶一次), 取出摇匀, 趁热过滤(残渣不水洗), 滤液冷却至室温。取 50 mL 滤液于 250 mL 分液漏斗, 加入 50 mL 乙酸乙酯, 振荡 5 min, 静置分层, 收集乙酸乙酯层置于 100 mL 具塞锥形瓶。取 4 mL 乙酸乙酯萃取液, 加入 95% 乙醇定容至 25 mL, 得溶液 A; 25 mL 乙酸乙酯萃取液于 100 mL 漏斗, 加入 25 mL 2.5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液, 迅速振荡 30 s 静置分层, 取 4 mL 乙酸乙酯层加入 95% 乙醇定容至 25 mL, 得溶液 C; 取 2 mL 水层萃取液, 加入 2 mL 饱和草酸溶液, 再加入 6 mL 超纯水, 用 95% 乙醇定容至 25 mL, 得溶液 D; 取第一步冷却滤液 25 mL 于 100 mL 分液漏斗, 加入 25 mL 正丁醇, 振荡 3 min, 静置分层, 取 2 mL 水层液加入 2 mL 饱和草酸溶液, 加入 6 mL 超纯水, 95% 乙醇定容至 25 mL, 得溶液 B。用 1 cm 比色皿, 分光光度计 380 nm

处, 以 95% 乙醇为空白对照, 测定 A、B、C、D 溶液的吸光度。分别按式(2)~式(4)计算茶黄素、茶褐素和茶红素含量。

$$C_{\text{TFs}} = \frac{E_C \times 2.25}{M} \times 100\%, \quad (2)$$

$$C_{\text{TBs}} = \frac{7.06 \times (2E_A + 2E_D - E_C - 2E_B)}{M} \times 100\%, \quad (3)$$

$$C_{\text{TRs}} = \frac{E_B \times 7.06}{M} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

$C_{\text{TFs}}$ 、 $C_{\text{TBs}}$ 、 $C_{\text{TRs}}$ ——茶黄素、茶褐素、茶红素含量, %;

$M$ ——茶叶干物率, %;

$E_A$ 、 $E_B$ 、 $E_C$ 、 $E_D$ ——溶液 A、B、C、D 在 380 nm 处的吸光值。

### 1.4 数据分析

使用 SPSS 26.0 软件进行方差分析、Student-Newman-Keuls (SNK) 法进行多重比较,  $P < 0.05$  表示差异性显著,  $P < 0.01$  表示差异性极显著。采用 Origin 2021 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵过程中藏茶主要可溶性物质的变化

茶叶水浸出物包括了酚类、茶多糖、氨基酸等水溶性物质, 其相对含量对发酵茶品质具有决定性作用。由图 1(a)可知, 发酵过程中, 可溶性固形物含量波动变化较大。黑毛茶的可溶性固形物含量最高达到 39.4%, 随着发酵时间推移, 可溶性固形物含量逐渐降低, 到 S4 阶段达到最低, 为 14.7%。在 S5~S6 阶段, 可溶性固形物含量有所增加, 最终的成品的可溶性固形物为 23.4%, 与黑毛茶比较下降了 40.5%。发酵前的黑毛茶样品 MC 总糖含量为 10.09%, 在 S1 阶段无明显下降。S6 阶段藏茶总糖含量为 5.64%, 与 S5 阶段相比较, 该阶段下降幅度最大。发酵结束后, 藏茶可溶性总糖含量下降了 44.1%。如图 1(b)所示, 随着发酵时间的增加, 藏茶中总多酚和总黄酮含量逐渐下降。黑毛茶样品总多酚含量为 77.82 mg/g, 藏茶成品的总多酚含量为 22.91 mg/g; 黑毛茶样品黄酮含量为 70.80 mg/g, 发酵结束后为 21.80 mg/g。藏茶制作工艺包括九制三渥堆, 在发酵过程中茶中可溶性固形物、可溶性糖、总多酚、总黄酮含量整体呈下降趋势, 可能是由于发酵过程中, 茶叶中多糖等大分子物质被微生物分解, 而小分子化合物又在酶催化、高温高湿等环境下进行美拉德等反应, 经过聚合、偶联等复杂的反应, 生成发酵茶重要的活性物质茶褐素等<sup>[12-13]</sup>, 也正因为这些复杂的变化, 黑茶与绿茶在化学成分、口感、风味以及功效方面有巨大差异<sup>[14]</sup>。

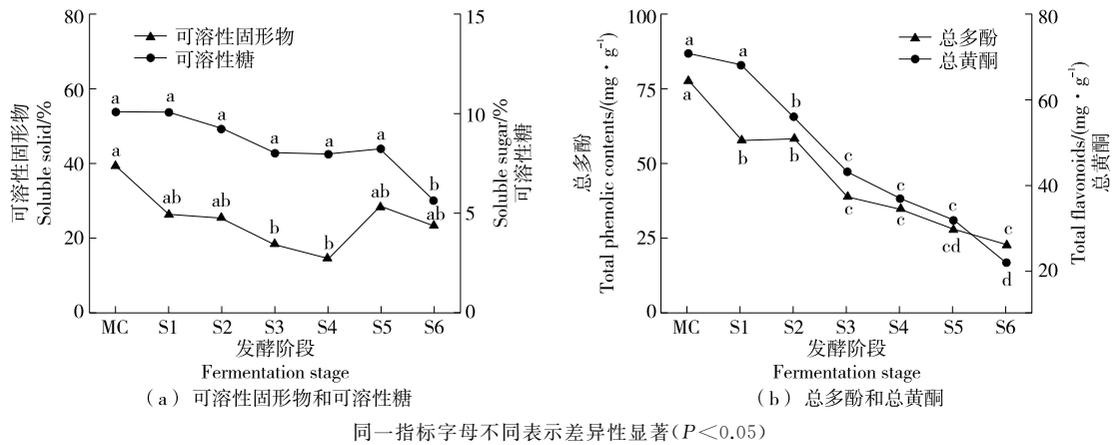


Figure 1 Components of water extract during Tibetan tea fermentation

### 2.2 发酵过程中藏茶体外抗氧化活性的变化

由图 2 可知,随着发酵时间的增加,藏茶水提取物清除 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的能力均持续下降,与图 1(b)中总多酚和总黄酮的变化趋势一致。此外,藏茶发酵前 DPPH 自由基清除能力为 83.09%,发酵结束后为 42%;藏茶黑毛茶的 ABTS 自由基清除能力为 93.08%,发酵结束后为 59.58%。随着发酵时间的增加,体外抗氧化活性也随之下降,可能是受到发酵过程中多酚类化合物减少的影响。植物多酚作为植物体内复杂的次生代谢物,广泛分布于植物界中,其结构含有大量的酚羟基,因其具有酚类游离基中间体的共振非定域作用和没有适合分子氧进攻的位置,不会引起新的游离基或者因连锁反应而被迅速氧化因此具有抗氧化作用<sup>[15]</sup>。有研究<sup>[16]</sup>表明,植物的抗氧化活性与其所含多酚、黄酮类物质紧密相关。

### 2.3 发酵过程中藏茶咖啡碱、茶碱、儿茶素等物质含量的变化

由表 2 可知,藏茶发酵过程中咖啡碱和 CG 含量呈

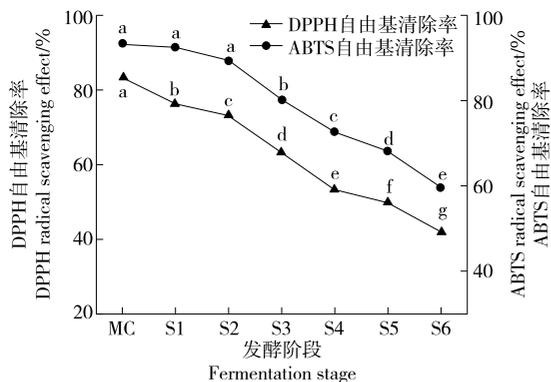


图 2 发酵过程中藏茶水提物体外抗氧化活性

Figure 2 In vitro antioxidant activity of water extract during Tibetan tea fermentation

波动状态,且变化较小;茶碱、GA、C 含量先上升再略有下降,最后回升;EC 与 GCG 含量先上升后下降;GC、EGC、EGCG、ECG 含量呈持续下降的趋势,且在黑毛茶中的含量远高于成品黑茶。在藏茶成品中,儿茶素单体含量从高到低依次为 EGC、EGCG、C、GC、GCG、ECG、CG、EC。根据环上的羟基是否与没食子酸形成酯键,可将儿茶素类分为酯型儿茶素类 CG、ECG、GCG、EGCG,和非酯型儿茶素类 C、EC、GC、EGC<sup>[17]</sup>,其中以 EGCG 含量最高(占儿茶素 80%)、抗氧化作用最强,EGCG 属非酶抗氧化剂,其抗氧化活性是维生素 E 的 20 倍、过氧化歧化酶的 6 倍<sup>[18]</sup>。王增盛等<sup>[4]</sup>认为,在黑茶发酵过程中,酯型儿茶素水解为非酯型儿茶素,更多的是没食子儿茶素(GC)类的氧化、聚合而使茶多酚含量降低。试验中,除了 GC 含量下降明显外,还有 EGC、EGCG、ECG 含量均呈持续下降的状态,且在黑毛茶中的含量远高于成品黑茶。茶多酚含量下降的原因一般可以归纳为两个方面:① 非酶促氧化反应,包括化合和酯化反应,即茶多酚与蛋白质结合生成水不溶性物质<sup>[19]</sup>,以及茶多酚与有机酸反应生成脂类物质<sup>[20]</sup>;② 茶多酚的酶促反应,酶源包括茶叶本身残留的内源酶<sup>[21]</sup>,以及渥堆过程中微生物繁殖而产生的具有相当活力的多酚氧化酶同工酶<sup>[22]</sup>,茶多酚在酶的作用下,向醌、茶黄素、茶红素、茶褐素的方向转化,形成黑茶汤色红褐的特点<sup>[23]</sup>。

### 2.4 发酵过程中藏茶茶色素的变化

用酶联免疫法测定藏茶发酵过程中的茶红素、茶黄素、茶褐素含量,结果如表 2 所示。茶黄素、茶红素、茶褐素被认为是形成黑茶滋味及茶汤色泽的重要物质,其中茶褐素还被认为是黑茶中重要的功能物质,具有降血脂、清除自由基等功效<sup>[24-25]</sup>。由图 3 可知,茶红素随着发酵程度增加,含量先升高后下降,S4 阶段含量最低;茶黄素在整个发酵阶段中含量变化很小,仅在成品茶中含量显

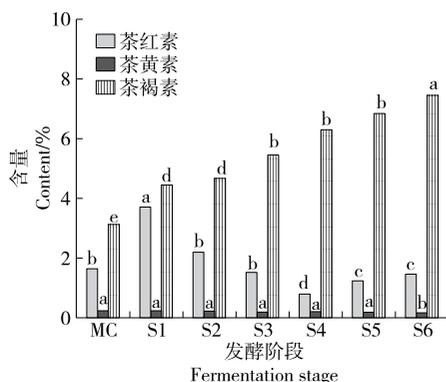
表 2 发酵过程中藏茶茶碱、咖啡碱、儿茶素等含量的变化<sup>†</sup>  
Table 2 Changes of theophylline, caffeine and catechins during fermentation mg/g

发酵阶段	茶碱	咖啡碱	GA	C	EC	GC
MC	0.02±0.01 <sup>e</sup>	25.20±0.22 <sup>ab</sup>	3.05±0.06 <sup>d</sup>	0.43±0.10 <sup>b</sup>	0.77±0.02 <sup>c</sup>	9.81±0.05 <sup>a</sup>
S1	0.09±0.01 <sup>e</sup>	23.14±1.32 <sup>a</sup>	6.55±0.28 <sup>b</sup>	0.69±0.04 <sup>a</sup>	1.82±0.12 <sup>a</sup>	1.88±0.09 <sup>b</sup>
S2	0.14±0.03 <sup>b</sup>	24.28±0.33 <sup>ab</sup>	5.93±0.51 <sup>bc</sup>	0.59±0.08 <sup>a</sup>	1.73±0.08 <sup>a</sup>	2.12±0.14 <sup>b</sup>
S3	0.19±0.01 <sup>a</sup>	27.23±2.27 <sup>a</sup>	8.08±0.16 <sup>a</sup>	0.43±0.04 <sup>b</sup>	1.03±0.16 <sup>b</sup>	1.35±0.15 <sup>c</sup>
S4	0.09±0.04 <sup>e</sup>	23.24±1.22 <sup>b</sup>	5.13±0.25 <sup>c</sup>	0.32±0.14 <sup>c</sup>	0.63±0.31 <sup>d</sup>	0.95±0.40 <sup>d</sup>
S5	0.05±0.02 <sup>d</sup>	22.35±0.52 <sup>b</sup>	4.92±0.49 <sup>c</sup>	0.27±0.02 <sup>c</sup>	0.51±0.02 <sup>d</sup>	0.67±0.43 <sup>e</sup>
S6	0.08±0.03 <sup>e</sup>	22.01±3.20 <sup>b</sup>	8.78±2.30 <sup>a</sup>	0.62±0.16 <sup>a</sup>	0.04±0.03 <sup>e</sup>	0.56±0.08 <sup>e</sup>

发酵阶段	EGC	CG	ECG	GCG	EGCG
MC	22.70±0.19 <sup>a</sup>	0.12±0.04 <sup>c</sup>	10.34±0.04 <sup>a</sup>	0.77±0.02 <sup>c</sup>	39.69±0.43 <sup>a</sup>
S1	6.92±0.38 <sup>c</sup>	0.58±0.02 <sup>a</sup>	3.80±0.16 <sup>b</sup>	2.84±0.08 <sup>a</sup>	9.90±0.38 <sup>b</sup>
S2	8.00±0.60 <sup>b</sup>	0.44±0.04 <sup>b</sup>	2.72±0.25 <sup>c</sup>	1.89±0.18 <sup>b</sup>	6.23±0.63 <sup>c</sup>
S3	3.81±0.72 <sup>d</sup>	0.09±0.10 <sup>c</sup>	0.74±0.01 <sup>d</sup>	1.46±0.03 <sup>c</sup>	4.15±0.12 <sup>d</sup>
S4	2.66±0.25 <sup>e</sup>	0.42±0.05 <sup>b</sup>	0.68±0.04 <sup>d</sup>	0.94±0.09 <sup>d</sup>	2.54±0.26 <sup>e</sup>
S5	2.01±0.06 <sup>f</sup>	0.39±0.10 <sup>b</sup>	0.63±0.14 <sup>d</sup>	0.82±0.18 <sup>de</sup>	2.39±0.12 <sup>e</sup>
S6	2.11±0.56 <sup>ef</sup>	0.10±0.04 <sup>c</sup>	0.12±0.05 <sup>e</sup>	11.03±3.60 <sup>f</sup>	1.36±0.42 <sup>f</sup>

<sup>†</sup> 同列标注字母不同表示差异性显著(P<0.05)。



同一指标字母不同表示差异性显著(P<0.05)

图 3 发酵过程中藏茶茶色素含量的变化

Figure 3 The change of the Tibetan tea pigment content during fermentation

著降低;茶褐素随着发酵程度增加,其含量逐渐升高。萧力争<sup>[26]</sup>也得到了类似结果。发酵过程中,酯型儿茶素在湿热条件下水解形成简单儿茶素和没食子酸等,多酚氧化酶又将以儿茶素为代表的多酚类物质氧化为邻醌,邻醌类进一步氧化聚合形成茶黄素、茶红素,茶黄素、茶红素与其他物质通过氧化、聚合、耦合作用形成茶褐素<sup>[27-28]</sup>。

### 3 结论

随着发酵程度增加,藏茶水提取物中可溶性糖、总多酚、总黄酮含量逐渐降低,抗氧化活性逐渐减弱,咖啡碱和茶碱含量变化较小,没食子儿茶素、表没食子儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯含量下降显著,茶褐素含量显著升高。在成品藏茶中,儿茶素单体含

量从高到低依次为表没食子儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯、儿茶素、没食子儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯、儿茶素没食子酸酯、表儿茶素。

黑茶制作流程复杂,尤其因地域、气候等的不同,演变出多种发酵工艺及具有地域特色的黑茶。该试验对藏茶渥堆发酵过程中部分重要成分进行了研究,后续将进行更加全面的藏茶发酵及其活性成分的研究。

### 参考文献

[1] 陈书谦. 雅安藏茶: 中国黑茶的典型代表[J]. 中华文化论坛, 2008(3): 125-129.  
CHEN S Q. Ya'an Tibetan tea: A typical representative of Chinese dark tea[J]. Chinese Culture Forum, 2008(3): 125-129.

[2] 唐皓迪, 颜同文, 罗晓琳, 等. 雅安藏茶水提物的降脂活性研究[J]. 中国测试, 2018, 44(2): 62-66.  
TANG H D, YAN T W, LUO X L, et al. Lipid-lowering activity of water extract from Ya'an Tibetan tea[J]. China Measurement and Test, 2018, 44(2): 62-66.

[3] 吕晓华, 徐家玉, 孙冉, 等. 藏茶保健作用的人体试饮研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(4): 168-171.  
LU X H, XU J Y, SUN R, et al. Human trial of health effects of tibetan tea[J]. Food Reasearch and Development, 2017, 38(4): 168-171.

[4] 王增盛, 施兆鹏, 刘仲华, 等. 论黑茶品质及风味形成机理[J]. 茶叶科学, 1991, 11(增刊): 1-9.  
WANG Z S, SHI Z P, LIUZ H, et al. Discussion on the mechanism of quality and flavour formation of dark green tea[J]. Journal Tea Science, 1991, 11(S1): 1-9.

[5] 杨伟丽. 黑茶渥堆的理论研究[J]. 茶叶通讯, 1966(4): 27-29.

- YANG L W. Theoretical Research of dark tea during pile fermentation[J]. Journal of Tea Communication, 1966(4): 27-29.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 195-196.
- National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people's republic of China: A book [S]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 195-196.
- [7] 何志勇, 夏文水. Folin-Ciocalteu 比色法测定橄榄中多酚含量的研究[J]. 林产化学与工业, 2006, 26(4): 15-18.
- HE Z Y, XIA W S. Study on determination of polyphenol content in *Canarium album* (Lour) rauesch by folin-ciocalteu colorimetry[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2006, 26(4): 15-18.
- [8] XIA C, YANG K J, ZHU Y Q, et al. Distribution of free and bound phenolic compounds,  $\beta$ -glucan, and araboxylan in fractions of milled hullless barley[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 169: 113935.
- [9] 何扬航, 刘刚, 夏陈, 等. 挤压膨化对青稞中不同形态多酚组成及抗氧化活性的影响[J]. 食品与机械, 2021, 37(3): 36-40.
- HE Y H, LIU G, XIA C, et al. Effect of extrusion process on different forms of phenolic compounds and antioxidant activities of hullless barley[J]. Food & Machinery, 2021, 37(3): 36-40.
- [10] 朱柏雨, 夏陈, 罗棵瀛, 等. 四川黑茶多酚和咖啡碱含量及其抗氧化活性分析[J]. 食品与机械, 2021, 37(8): 25-32.
- ZHU B Y, XIA C, LUO K B, et al. Active components, antioxidant capacity and quality evaluation of Sichuan dark tea[J]. Food & Machinery, 2021, 37(8): 25-32.
- [11] WANG Q P, PENG C X, GONG J S. Effects of enzymatic action on the formation of theabrownin during solid state fermentation of Pu-erh tea[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(13): 2 412-2 418.
- [12] PENG C X, JIAN L, LIU H R, et al. Influence of different fermentation raw materials on pyrolyzates of Pu-erh tea theabrownin by Curie-point pyrolysis-gas chromatography-mass spectroscopy [ J ]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 54(1): 197-203.
- [13] WANG Q P, BELŠČAK-CVITANOVIĆ A, DURGO K, et al. Physicochemical properties and biological activities of a high-theabrownins instant Pu-erh tea produced using *Aspergillus tubingensis*[J]. LWT-Food Science Technology, 2018, 90: 598-605.
- [14] MA W J, ZHU Y, SHI J, et al. Insight into the volatile profiles of four types of dark teas obtained from the same dark raw tea material[J]. Food Chemistry, 2021, 346: 128906.
- [15] RICE-EVANS C A, MILLER N J, PAGANGA G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1996, 20(7): 933-956.
- [16] SCALBERT A, JOHNSON I T, SALTMARSH M. Polyphenols: Antioxidants and beyond[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2005, 81(1): 215S-217S.
- [17] 董占波. 吸附分离法制备茶叶儿茶素类和茶氨酸的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012: 1-2.
- DONG Z B. Preparation of Catechins and theanine by adsorption separation from tea extracts[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012: 1-2.
- [18] 徐志泉, 易著文, 何小解. 表没食子儿茶素没食子酸酯对大鼠肾衰的治疗研究进展[J]. 现代医药卫生, 2006, 22(16): 2 471-2 472.
- XU Z Q, YI Z W, HE X J. Research progress of epigallocatechin gallate in the treatment of renal failure in rats[J]. Modern Medicine and Hygiene, 2006, 22(16): 2 471-2 472.
- [19] 安徽农学院. 茶叶生物化学[M]. 2版. 北京: 北京农业出版社, 1994: 1-2.
- Anhui Agricultural College. Biochemistry of tea [M]. 2nd ed. Beijing: Beijing Agricultural Press, 1994: 1-2.
- [20] 屠幼英, 梁慧玲, 陈暄, 等. 紧压茶儿茶素和有机酸的组成分析[J]. 茶叶, 2002, 28(1): 22-24.
- TU Y Y, LIANG H L, CHEN X, et al. Analysis of catechins and organic acids in compressed teas[J]. Journal of Tea, 2002, 28(1): 22-24.
- [21] DONOVAN L, BROOKER D. Effects of hydrolysable and condensed tannins on growth, morphology and metabolism of *Streptococcus gallolyticus* (S. caprinus) and *Streptococcus bovis* [J]. Microbiology, 2001, 147: 1 025-1 033.
- [22] 施兆鹏. 茶叶加工学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 2-3.
- SHI Z P. Tea processing science[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997: 2-3.
- [23] 陈应娟. 四川黑茶品质形成研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2011: 5-6.
- CHEN Y J. Study on the quality formation of Sichuan brick tea[D]. Ya'an: Sichuan agriculture University, 2011: 5-6.
- [24] 陈婷, 彭春秀, 龚加顺, 等. 普洱茶茶褐素对高脂血症大鼠血脂代谢的影响[J]. 中国食品学报, 2011, 11(1): 20-27.
- CHEN T, PENG C X, GONG J X, et al. Effect of theabrownin extracted from Pu-erh tea on the metabolism of blood lipid in hyperlipidemia rats[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(1): 20-27.
- [25] DONG W M, TAN C, GONG J S. Factors influencing the effects of theabrownin in Pu-erh tea on scavenging DPPH radicals [J]. Agricultural Science and Technology, 2013, 14(2): 317-323.
- [26] 萧力争. 黑茶加工过程中色泽的形成机理[J]. 中国茶叶, 1994, 16(1): 2-3.
- XIAO L Z. Formation mechanism of color of dark tea during processing[J]. Chinese Tea, 1994, 16(1): 2-3.
- [27] 付润华, 齐桂年. 黑茶渥堆作用的研究进展与展望[J]. 福建茶叶, 2007(4): 6-8.
- FU R H, QI G N. Research progress and prospect of pile fermentation of dark tea[J]. Fujian Tea, 2007(4): 6-8.
- [28] 张大春, 王登良. 黑茶渥堆作用研究进展[J]. 中国茶叶, 2002, 24(5): 6-8.
- ZHANG D C, WANG D L. Research progress of dark tea during pile fermentation process[J]. Chinese Tea, 2002, 24(5): 6-8.