

SDRP 和 SDE 法提取乌龙茶香气成分的比较研究^{*}

陈悦娇^{1,2}, 王冬梅¹, 邓炜强¹, 黄巧娟¹, 杨得坡¹

(1. 中山大学药学院, 广东 广州 510080;

2. 仲恺农业技术学院, 广东 广州 510225)

摘要: 采用减压水蒸汽蒸馏法 (SDRP) 和常压水蒸汽蒸馏并同时萃取法 (SDE) 提取乌龙茶中的香气成分, 并用 GC-MS 进行分析比较。结果表明, 两种香精油的香气成分组成比例有很大差异。SDE 法提取的香精油中脂肪醛、脂肪醇、萜烯醇类、酯类、 α -法尼烯和 β -紫罗酮等收量较 SDRP 法高, 而沸点较高, 或在热水中有一定溶解度, 或对热不稳定的化合物, 如有机酸类、内酯类、芳香族醇类和吡啶等, 采用 SDRP 法可得到较高的收量。SDRP 法得到的香精油可较好地反映原样品的香气特征, 适于样品中原有香气 (挥发性) 成分的定性定量分析, 而 SDE 法提取得到的香精油有焦熟香气, 与原样品的香气特征有较大差异, 但适用于加热香气 (挥发性) 成分的研究。

关键词: 乌龙茶; 香气; SDRP; SDE; 气相色谱-质谱联用

中图分类号: Q946.82 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2005) S1-0275-04

香气是评价茶叶品质的重要指标, 对乌龙茶尤其如此。对茶叶香气成分的研究, 首先必须从香精油的提取制备开始, 制备的香精油香气是否真实, 直接关系到香型评价的客观性以及香气成分研究的科学性。在香气 (挥发油) 化学成分研究中, 常用的提取方法有常压下连续蒸馏并同时萃取法 (SDE)、顶空吸附法 (HSA)、柱吸附法 (TLA), 超临界 CO₂ 萃取法等^[1], 其中 SDE 法在国内应用最为广泛。然而, SDE 法提取过程中, 由于样品在高温下长时间加热, 所得挥发油在不同程度上产生失真现象。减压水蒸汽蒸馏法 (steam distillation under reduced pressure, 简称 SDRP) 由于可降低蒸馏温度, 避免样品成分在蒸馏过程中发生热变化, 在国外香气 (挥发性) 成分的研究中得到广泛使用。本文以乌龙茶为原料, 对分别采用减压和常压下的两种水蒸汽蒸馏法 (SDRP 和 SDE 法) 提取所得乌龙茶的香精油成分进行比较分析, 旨在探索一种更客观地反映被测样品香气特征的香精油提取方法。

1 实验部分

1.1 材料与试剂

实验材料奇兰乌龙茶为 2003 年春茶, 由广东省梅州市大埔县拾富茶业有限公司厂提供, 所用试剂乙醚、氯化钠、无水硫酸钠均为分析纯, 水为蒸

馏水。

1.2 乌龙茶香气的提取方法

1.2.1 减压水蒸汽蒸馏 (SDRP) 法 采用如图 1 所示的减压水蒸汽蒸馏装置, 在 2 000 mL 烧瓶中加入磨碎茶样 100 g, 加入沸腾蒸馏水 800 mL, 减压蒸馏 (控制真空度由 50 mmHg 缓慢降至 15 mmHg) 至干, 冷阱收集馏出液; 残留茶渣再加入沸腾蒸馏水 500 mL, 同法减压蒸馏至干, 合并馏出液。馏出液解冻后, 加 NaCl 至饱和, 用预先精制过的乙醚萃取 3 次 (分别为 180、130、90 mL), 合并乙醚萃取液, 加无水硫酸钠脱水 (过夜) 后, 过滤。滤液中加入 0.174 mg/mL 的内标 (癸酸乙酯) 乙醚溶液 1.0 mL, 混匀后, 常压浓缩 (39 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C) 至小体积, 转移于 2 mL 磨口样品管中, 密封冷冻保存, 供 GC-MS 分析用。分析时用氮气浓缩至约 100 μ L。

1.2.2 常压连续蒸馏并同时萃取法 (SDE 法) 采用改良的 SDE 装置^[2], 2 000 mL 圆底烧瓶中加入磨碎茶样 100 g, 加入沸腾蒸馏水 1 000 mL, 电热套加热保持微沸。250 mL 萃取瓶中加入预先精制过的乙醚 100 mL, 水浴 45 $^{\circ}$ C 加热, 回流萃取 1 h。乙醚萃取液中加无水硫酸钠脱水 (过夜) 后, 过滤。滤液中加入 0.174 mg/mL 的内标 (癸酸乙酯) 乙醚溶液 1.0 mL, 混匀后, 常压浓缩 (39 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C 至小体积, 转移于 2 mL 磨口样品管中, 密封冷冻

^{*} 收稿日期: 2005-03-28

作者简介: 陈悦娇 (1970 年生) 女, 高级实验师; 通讯联系人: 王冬梅, E-mail: lssw@zsu.edu.cn

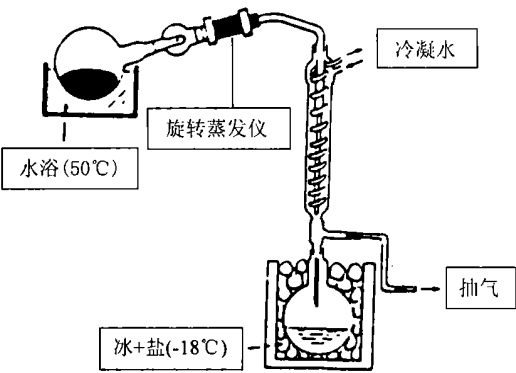


图 1 减压水蒸汽蒸馏 (SDRP) 装置

Fig. 1 Apparatus of steam distillation under reduced pressure (SDRP)

保存, 供 GC-MS 分析用。分析时用氮气浓缩至约 100 μ L。

1.3 GC-MS 分析仪器与条件

美国 Finnigan TRACE DSQ 气相色谱-质谱联用仪, TC-WAX 石英毛细管柱 (60 m $\times$ 0.25 mm i. d., 膜厚 0.25 μ m), 柱初温 60 $^{\circ}$ C, 保持 4 min, 然后以 2 $^{\circ}$ C/min 的速率升至 200 $^{\circ}$ C, 保持 30 min。载气为高纯氦气 (99.999%), 流速 1 mL/min, 分流比 30 : 1; 进样口温度 200 $^{\circ}$ C, 传输线温度 220 $^{\circ}$ C; EI 离子源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 $^{\circ}$ C, m/z 扫描范围 29~400。

2 结果与讨论

按上述 GC-MS 分析条件, 分别对 SDRP 和 SDE 法提取的奇兰乌龙茶香精油的香气成分进行分析, 得其总离子流色谱图如图 2 所示。

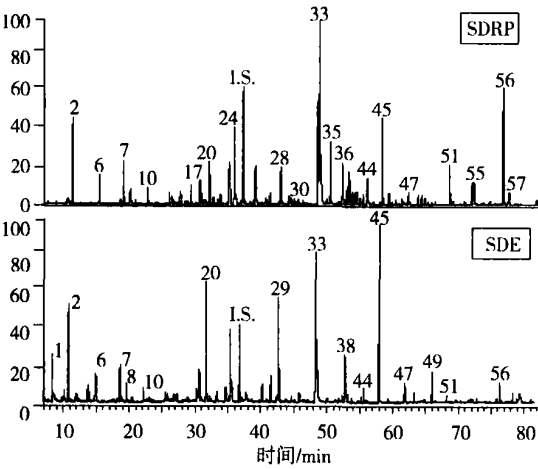


图 2 SDRP 和 SDE 法提取的奇兰乌龙茶香精油的总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion chromatograms of the aroma concentrates prepared from Qilan Oolong tea by SDRP and SDE methods

2.1 SDRP 法和 SDE 法提取的香气成分及其收量比较

总离子流色谱图中的各色谱峰, 根据其质谱图的基峰、质荷比和相对丰度, 经人工解析及计算机谱库检索 (NIST 谱库), 并参考保留时间指数, 确定了其中 57 种香气成分, 其结果列于表 1; 以癸酸乙酯为内标化合物 (保留时间 36.90 min), 通过各色谱峰的峰面积与内标化合物峰面积的比值, 计算出采用 2 种方法提取出的各香气成分的收量 (表 1)。

表 1 SDRP 和 SDE 法提取的奇兰乌龙茶香气成分的分析结果

Tab. 1 Analytical results of the aroma constituents prepared from Qilan oolong tea by SDRP and SDE methods

序号	Rt/min	成分	收量/ 10^{-6}	
			SDRP	SDE
1	8.80	hexanal	痕量	0.76
2	11.27	1-penten-3-ol	1.02	1.78
3	12.47	heptanal	未检测到	0.14
4	14.16	(E)-2-hexenal	痕量	0.19
5	14.33	2-pentylfuran	未检测到	0.24
6	15.36	pentanol	0.39	0.71
7	19.10	(Z)-2-penten-1-ol	0.62	0.80
8	20.11	6-methyl-5-heptene-2-one	0.21	0.44
9	20.87	hexanol	0.07	0.10
10	22.68	(Z)-3-hexenol	0.24	0.31
11	25.99	linalool oxide I	0.16	0.22
12	26.43	1-octen-3-ol	0.09	0.19
13	26.74	heptanol	0.03	0.04
14	26.91	acetic acid	0.01	0.07
15	27.64	linalool oxide II	0.25	0.24
16	29.26	(2E, 4E)-heptadienal	0.28	0.10
17	30.72	(3E, 5Z)-octadien-2-one	0.32	0.35
18	30.95	benzaldehyde	0.14	0.17
19	31.79	propanoic acid	0.03	未检测到
20	32.13	linalool	0.50	2.81
21	32.74	octanol	0.06	0.10
22	33.39	2-methylpropanoic acid	0.07	未检测到
23	33.72	(3E, 5E)-octadien-2-one	0.17	0.28
24	35.84	3, 7-dimethyl-1, 5, 7-octatrien-3-ol	1.00	1.66
25	39.12	2-methylbutanoic acid	0.47	未检测到
26	40.64	α -terpineol	0.10	0.40
27	41.29	4-hexanolide 0.23	未检测到	
28	42.95	linalool oxide	0.49	0.08
29	43.14	α -farnesene	痕量	2.23
30	44.26	linalool oxide IV	0.08	痕量
31	45.01	methyl salicylate	0.07	0.18
32	48.63	hexanoic acid	1.36	痕量
33	48.85	geraniol	3.47	4.58
34	49.09	geranyl acetone	未检测到	0.24

续上表				
序号	Rt/min	成分	收量/ 10^{-6}	
			SDRP	SDE
35	50.48	benzyl alcohol	0.83	痕量
36	52.26	phenylethyl alcohol	0.72	痕量
37	53.00	benzyl cyanide	0.17	0.08
38	53.25	β -Ionone	0.60	1.37
39	53.67	cis-jasmone	0.18	0.17
40	54.12	heptanoic acid	0.12	未检测到
41	54.28	2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol	0.07	未检测到
42	54.98	(E)-2-hexenoic acid	0.08	未检测到
43	55.43	2-acetylpyrrole	0.15	nd
44	56.11	β -ionone-5,6-epoxide	0.39	0.29
45	58.39	trans-nerolidol	1.05	4.16
46	59.36	octanoic acid	0.16	nd
47	62.29	(Z)-3-hexenyl benzoate	0.14	0.41
48	64.33	nonanoic acid	0.12	未检测到
49	66.45	methyl hexadecanoate	0.05	0.59
50	68.61	(Z)-3-hexenyl salicylate	未检测到	0.03
51	68.69	jasmine lactone	0.57	0.11
52	69.36	hexyl salicylate	未检测到	0.03
53	70.85	methyl jasmonate	0.04	0.03
54	72.02	geranic acid	0.31	0.10
55	72.32	dihydroactinidiolide	0.48	0.07
56	76.75	indole	2.03	0.50
57	77.56	coumarin	0.26	痕量
		香精油总量	20.45	27.35

2.2 讨论

由图 2、表 1 可知, SDE 法提取得到的奇兰乌龙茶香精油总收量比 SDRP 法高, 2 种香精油的香气成分组成比例有很大差异。SDE 法得到的香气成分收量大多比 SDRP 法的高, 主要为脂肪醛(酮)、脂肪醇、萜烯醇、酯等成分, 其中, 1-戊烯-3-醇、芳樟醇、3, 7-二甲基-1, 5, 7-辛三烯-3-醇、 α -法尼烯、香叶醇、 β -紫罗酮、反式-橙花叔醇较为明显。而沸点较高、或在热水中有一定溶解度、或对热不稳定的化合物, 如脂肪酸类、内酯类、芳香族醇类和吡啶等香气成分则采用 SDRP 法的收量高于 SDE 法, 尤其是吡啶。

SDE 法于 1964 年由 Likens 和 Nikerson 发明^[3], 后来相继得到一些改进^[4]。其工作原理是: 样品分散于大量水中在常压下加热沸腾, 蒸汽和萃取溶剂的蒸汽在密闭的装置中充分混合进行萃取。这种方法被认为对多种化合物具有较高的回收率, 是目前使用最为广泛的一种挥发性成分分析的制样方法。但在实践中, SDE 法的一些缺陷逐渐被揭示^[4-9], SDE 法的提取过程是在常压下保持样品水溶液沸腾的条件下进行的。由于高温加热, 在提取过程中样品

中所含化学成分会发生不同程度的热变化, 从而产生一些非样品中原有的化学成分(包括挥发性成分), 所获得的香精油亦常有明显的香气失真现象。本研究采用 SDE 法提取的乌龙茶香精油感官上有焦熟气味。SDE 法提取的香气成分中脂肪醇、脂肪醛收量较高, 其中一部分可能是由加热提取过程中不饱和脂肪酸的氧化降解而生成^[7]; 芳樟醇、香叶醇等单萜醇类在干茶中存在大量糖苷类前体^[8,9], 蒸馏萃取的同时会伴随着部分香气成分糖苷类前体的水解; β -紫罗酮可由 β -胡萝卜素加热降解产生^[7], α -法尼烯可能是由橙花叔醇脱水而来^[10]。由于这些反应的存在, 因而 SDE 法提取的香精油不能准确反映样品中原有的游离香气成分的真实组成与含量。但是, 如果研究对象为样品的加热香气, SDE 法仍不失为一种有效的香气成分分析的制样方法。

SDRP 法由于采用减压, 可在较低温度(50℃以下)下进行样品的连续水蒸汽蒸馏, 一方面在很大程度上避免了高温下样品中成分之间的化学反应以及已有成分的结构变化, 如: 内酯类成分; 另一方面可降低某些挥发性成分(如: 有机酸类)在水中的溶解度, 从而有利于其随水蒸汽蒸馏出来。香气成分与水共沸被水蒸汽带出后, 采用冷阱(冰-盐(2:1)混合物, 约-18~-20℃)收集蒸馏液, 可减少由抽真空造成的低沸点香气成分的损失。另外, 值得注意的是, 苯甲醇、苯乙醇两种芳香族醇类化合物, SDE 法只检测到痕量, 而 SDRP 法收量较高。在以 SDE 法为制样方法的其他茶叶香气研究文献^[11-13]中, 这两种成分多未检测到或含量很低。苯甲醇有微弱的梅花香气, 有定香作用; 苯乙醇具有优雅的玫瑰花香, 二者均是乌龙茶的主要香气成分^[14]。采用 SDE 法作为乌龙茶香气分析的制样方法, 这两个成分不能正确反映就不太客观。SDRP 法提取的香精油感官上与干茶的香气特征一致, 分析结果也比较合理, 虽然提取操作时间较 SDE 法长, 但能客观反映样品原有的香气特征, 使香气研究更具科学性, 作为香气成分分析研究的制样方法值得广泛推广。

参考文献:

[1] 吕连梅, 董尚胜. 茶叶香气研究进展[J]. 茶叶, 2002, 28 (4): 181-184.
[2] THOMAS H S, ROBERTS A F, MON T R, et al. Isolation of volatile components from a model system [J]. Agric Food Chem, 1977, 25(3): 446-449.
[3] LIKENS S T, NIKERSON G B. Detection of certain hop constituents in brewing products [J]. Amer Soc Brew Chem Proc., 1964, 5.

[4] 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, 21(1): 38— 43.

[5] 李拥军,施兆鹏. 柱吸附法和 SDE 法提取茶叶香气的研究 [J] . 湖南农业大学学报, 2001, 27(4): 295— 299.

[6] 张正竹,陈玢玢. 茶叶香精油的同时蒸馏萃取 (SDE) 法的提取效率分析 [J] . 中国茶叶加工, 2003(1): 31— 33.

[7] 郭雯飞. 茶叶香气生成机理的研究 [J] . 中国茶叶加工, 1996(4): 34— 37.

[8] YANO M, OKADA K, KUBOTA K, et al. Study on the precursors of monoterpene alcohols in tea leaves [J] . Agric Biol Chem, 1990, 54(4): 1023— 1028.

[9] SAKATA K, OGAWA K, GUO W, MOON J H, et al. Molecular basis of alcoholic aroma formation in tea leaves [J] . Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu. 1996, 38: 551— 556.

[10] NOBUMOTO TY, KUBOTA K, KOBAYASHI A, et al. Structure of α -farnesene in the essential oil of Oolong tea [J] . Agric Biol Chem, 1990, 54(1): 247— 248.

[11] 黄福平,陈荣冰,陈伟,等. 做青强度对乌龙茶品质及其香气组成的影响 [J] . 福建农业学报, 2001, 16(3): 28— 34.

[12] 张方舟,陈荣冰,黄福平,等. 春兰及其母本铁观音乌龙茶香气组分分析简报 [J] . 福建农业学报, 1999, 14(2): 33— 36.

[13] 戴素贤,谢赤军,陈栋,等. 岭头单枞乌龙茶香气及化学组成特征 [J] . 茶叶科学, 1997, 17(2): 213— 218.

[14] 竹尾忠一(程启坤译). 乌龙茶的香气及其特征 [J] . 国外农学—茶叶, 1984(4): 16— 22.

Comparison on the Aroma Constituents of Oolong Tea
Extracted by SDRP and SDE methods

CHEN Yue-jiao^{1, 2}, WANG Dong-mei^{1 *}, DENG Wei-qiang¹, HUANG Qiao-juan¹, YANG De-po¹
(1. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China;
2. Zhongkai University of Agriculture and Technology, Guangzhou 510225, China)

Abstract: Using two methods of steam distillation under reduced pressure (SDRP) and simultaneous distillation and extraction (SDE), the aroma concentrates from Oolong tea were prepared, respectively, and then were objected to GC—MS analysis. The results indicated that the aroma constituents between the obtained two aroma concentrates showed significant difference. The yields of aliphatic aldehydes, aliphatic alcohols, terpene alcohols, esters, α -farnesene and β -ionone extracted by SDE were higher than those extracted by SDRP, while the yields of the compounds with high boiling point or soluble in hot water to some extent, or unstable in heat, such as organic acids, lactones, aromatic alcohols and indole extracted by SDRP were higher than those extracted by SDE. The aroma concentrate extracted by SDRP well reflected the aroma characteristic of the original tea sample. SDRP was thought to be suitable for the qualitative and quantitative analyses of the aroma constituents presented in the original sample. However, the aroma concentrate prepared by SDE had a cooked smell, which was quite different from the characteristic odor property of the original sample. The SDE method was considered to be suitable for the study of thermal generated aroma.

Key words: Oolong tea; aroma; steam distillation under reduced pressure; SDE; GC—MS