

不同升温方式下大红袍做青中PPO和 β -G活性变化对比

陈倩莲,王芳*,莫楚红,邵宇航
(武夷学院 茶与食品学院,福建 武夷山 354300)

摘要:以武夷山大红袍驻芽三四叶为鲜叶原料,采用武夷岩茶制作工艺,比较分析做青时采用炭火和暖气机组升温对青叶多酚氧化酶(polyphenol oxidase,PPO)活性和 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase, β -G)活性变化的影响。结果表明:炭火做青间温度和CO₂浓度高于暖气机组做青间,两者的相对湿度区别不大;对比晒青叶,至做青结束时,两者的PPO活性皆显著降低,炭火做青间大红袍PPO活性减少了22.11%,暖气机组做青间大红袍PPO活性减少了28.82%;而 β -G活性的变化不同,炭火做青间大红袍 β -G活性显著降低,减少37.20%,暖气机组做青间大红袍 β -G活性明显升高,增加了37.79%。

关键词:大红袍;升温方式;做青;多酚氧化酶; β -葡萄糖苷酶

Comparison of PPO and β -G Activity Changes in the Green-Making of Dahongpao under the Different Heating Methods

CHEN Qian-lian, WANG Fang*, MO Chu-hong, SHAO Yu-hang

(College of Tea and Food Science, Wuyi University, Wuyishan 354300, Fujian, China)

Abstract: Taking three or four leaves of the bud of Wuyishan Dahongpao as raw materials, used Wuyi rock tea production technology, the effects of charcoal fire and heating unit heating on the changes of polyphenol oxidase (PPO) activity and β -glucosidase (β -G) activity in green leaves were compared and analyzed in the process of green-making. The results showed that temperature and CO₂ concentration of the green-making room heating with charcoal fire were higher than that of the heating unit, and the relative humidity of the two was not different. Contrasted the solar-withering leaves to the end of green-making, the PPO activity of both was significantly reduced, the polyphenol oxidase of Wuyi Dahongpao in the charcoal fire green-making room decreased by 22.11% and the polyphenol oxidase of Wuyi Dahongpao in the heating unit green-making room decreased by 28.82%. While the changes of β -G activity were different, the β -glucosidase of Wuyi Dahongpao in the charcoal fire was significantly reduced by 37.20% and the β -glucosidase of Wuyi Dahongpao in the heating unit was significantly increased by 37.79%.

Key words: Dahongpao; heating modes; green-making; polyphenol oxidase; β -glucosidase

引文格式:

陈倩莲,王芳,莫楚红,等.不同升温方式下大红袍做青中PPO和 β -G活性变化对比[J].食品研究与开发,2021,42(7):28-32.

CHEN Qianlian, WANG Fang, MO Chuhong, et al. Comparison of PPO and β -G Activity Changes in the Green-Making of Dahongpao under the Different Heating Methods[J]. Food Research and Development, 2021, 42(7):28-32.

基金项目:福建省科技厅引导性项目(2018N0030);福建省科技厅科技创新平台项目(2018N2004);福建省科技厅对外合作产业化项目(2016H1008)

作者简介:陈倩莲(1998—),女(汉),本科,研究方向:茶叶品质调控。

*通信作者:王芳,女(汉),副教授,硕士,研究方向:茶叶审评与品质调控和茶资源利用。

武夷山大红袍有“茶中之王”的美誉,属乌龙茶类,其滋味浓厚甘醇、香气优雅纯正,具有独特的花果香,深受国内外消费者的喜爱。大红袍的初制工艺为:鲜叶→萎凋→做青→杀青→揉捻→干燥,在这些过程中茶叶受到包括机械损伤在内的多种应力的影响,发生了复杂的酶促和非酶促作用^[1]。其中做青是形成武夷岩茶品质风格的关键工序。在茶叶加工中,多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)和 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase, β -G)对成茶的滋味和香气起着重要作用,其中PPO主要影响茶黄素的酶促合成^[2], β -G主要影响萜烯类和芳香醇类配糖体的水解^[3-4]。因此研究做青过程中PPO和 β -G的活性变化具有重要意义。

诸多研究显示做青间的温湿度等环境因子和做青程度对PPO、 β -G的活性有不同的影响。魏新林等^[5]采用岭头单丛品种鲜叶为原料研究不同做青温湿度对茶叶香气成分的影响,研究结果发现中温(25℃)和中湿(80%)的做青环境下青叶芳香物质种类最多且含量高;过高、过低的湿度均抑制PPO的活性,从而影响到一系列香气形成的酶促反应,中湿有利于香气形成。禹利君等^[6]以毛蟹的三、四叶梢为原料,采用乌龙茶新工艺加工法研究做青期间PPO活性的变化,结果表明适宜温度的晒青和萎凋会提高PPO的活性,做青时PPO活性与含水量、pH值呈正相关。王丽霞等^[7]研究黄旦、肉桂在人工条件下萎凋(温度20℃、相对湿度90%~95%)和室温自然条件下萎凋(温度25℃、相对湿度50%~60%)PPO活性的变化对比,结果表明在人工条件下萎凋的两个品种鲜叶酶活性均高于自然条件且肉桂高于黄旦。XU等^[8]以安溪铁观音鲜叶为原料研究在萎凋、做青过程中新梢不同部位的PPO和 β -G活性与发酵程度的关系,结果表明随着新梢嫩度的降低PPO和 β -G活性呈下降的趋势,新梢的第一部分(芽和第一片叶)发酵程度远高于其他部分(二到五茎叶)。张秀云等^[9]以福鼎大白茶和楮叶群体种鲜叶为原料,研究乌龙茶不同萎凋做青工艺对 β -G活性的影响,结果表明采用重做青时,两个品种的 β -G活性变化趋势基本一致,但楮叶种中酶活性显著高于福鼎大白茶,且在做青的过程中,酶活性的变化幅度随着做青强度的增强而增大。张正竹等^[10]以楮叶品种的茶鲜叶为原料研究鲜叶在堆放过程中 β -G活性变化,结果表明随着堆放时间的延长,叶组织逐步失水,细胞呼吸速率逐渐减弱, β -G活性显著升高。骆耀平等^[11]采用红芽佛手、毛蟹、水仙等7个品种鲜叶为原料研究不同品种、叶位和叶龄间 β -G活性的变化,结果表明不同品种之间 β -G活性差异显著,红芽佛手酶活性最

低;各品种酶活性在季节上的差异皆表现为秋季>夏季>春季;各品种酶活性会随着新梢嫩度的降低而降低。

以上研究主要集中在广东单丛、闽南乌龙等品种,未涉及到大红袍品种的研究,不同品种的做青要求有差异,且各地乌龙茶的做青方式有所不同,不同的茶树品种生化成分含量不同,最适宜的做青环境不同,因此本试验研究炭火升温 and 暖气机组升温条件下大红袍做青中PPO活性和 β -G活性变化对比,为改善大红袍做青环境和提升品质提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料与试剂

茶鲜叶:武夷山大红袍驻芽三四叶,产地为武夷山下梅;柠檬酸、柠檬酸钠、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)、石英砂、邻苯二酚、脯氨酸、偏磷酸、碳酸钠、对硝基苯酚(以上试剂均为分析纯):国药集团化学试剂公司。

1.1.2 仪器与设备

YG-80 燃油热水锅炉暖气机组:青州隆百特新能源有限公司;110型综合做青机:福建省安溪艺萌机械有限公司;Tes-1370 温湿度二氧化碳测试仪:台湾泰仕电子工业股份有限公司;XFE-6s 茶叶烘焙机:泉州新芳春制茶设备有限公司;YD5-10B 液氮罐:四川亚西低温设备有限公司;YWS-26 恒温水浴锅:青岛聚创环保设备有限公司;721S 可见分光光度计:上海仪电分析仪器有限公司;WP-UP-UV-20 纯水超滤设备:河南净邦环保工程有限公司;IMS-20 全自动雪花制冰机:常熟市学科电器有限公司;Neofuge23R 台式高速冷冻离心机:上海力申科学仪器有限公司;DFY-200C 高速万能粉碎机:天津市泰斯特仪器有限公司;UV-1800 型紫外线可见分光光度计:上海美谱达仪器有限责任公司;DE-40L262 超低温冰箱:天津伟恩实验仪器科技有限公司;DHG-9030A 鼓风电热恒温干燥箱:上海姚氏仪器设备厂。

1.2 试验方法

1.2.1 武夷岩茶加工工艺

武夷岩茶初制加工工艺流程为:鲜叶→萎凋→做青→杀青→揉捻→干燥。试验设置两种不同升温方式的做青间,分别为传统炭火升温 and 暖气机组升温。

将晒青后的青叶放入两个做青间的综合做青机,上桶后吹冷风5 min→慢转3 min→吹冷风3 min→萎凋30 min,开始做青,做青工艺具体参数设置见表1。

表1 大红袍做青工艺参数

Table 1 Parameters of fine-manipulation technology of Dahongpao

做青过程	摇青时间/ min	静置时间/ min	吹风次数	吹风时间/ min
一摇	2	45	2	8
二摇	5	60	2	5
三摇	10	70	1	3
四摇	20	80	1	1
五摇	30	90	1	1

1.2.2 试验样品制备

用液氮固样法取样品(晒青叶、萎凋叶、摇青过程中的一摇叶至五摇叶、一静叶至五静叶的第二叶),然后将样品用锡箔纸包装后在液氮中固定,储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中备用^[12]。

1.2.3 做青间环境参数测定方法

使用 Tes-1370 温湿度二氧化碳测试仪分别测定两种做青间的温湿度及二氧化碳浓度,选取 5 个测试点,分别为综合做青机的中间位置(A)以及两端的的上部和下部(分别为 B、C、D、E),每隔 30 min 测一次。

1.2.4 酶活性的测定

- 1) 多酚氧化酶活性测定采用邻苯二酚法^[13]。
- 2) β -葡萄糖苷酶活性测定参照吴乔的试验方法^[14]。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2010 对数据进行归类、分析和计算;采用 SPSS 25.0 统计软件对数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同升温方式做青间的环境参数

根据“A、B、C、D、E”5个测定点与青叶的距离,A测定点离青叶最近,故按 $X=A\times 40\%+(B+C+D+E)\times 15\%$ 公式对所测5个点的温度、湿度和 CO_2 浓度进行计算。炭火升温与暖气机组升温对做青间温度、湿度和 CO_2 浓度的变化对比分别见图1、图2、图3。

由图1可知,从做青开始到7.5h,炭火做青间温度

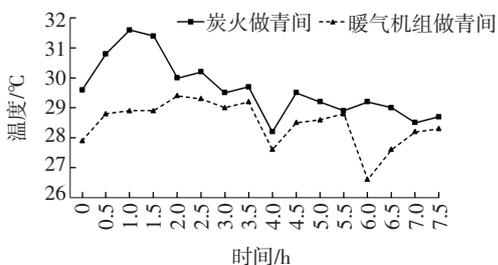


图1 做青间温度变化对比

Fig.1 Comparison of the temperature changes between two fine-manipulation rooms

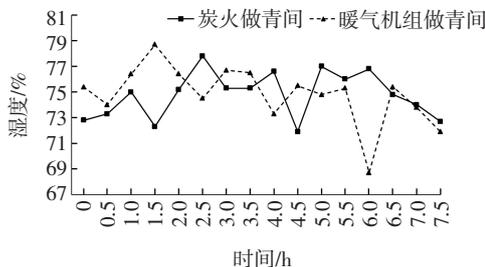


图2 做青间湿度变化对比

Fig.2 Comparison of the humidity changes between two fine-manipulation rooms

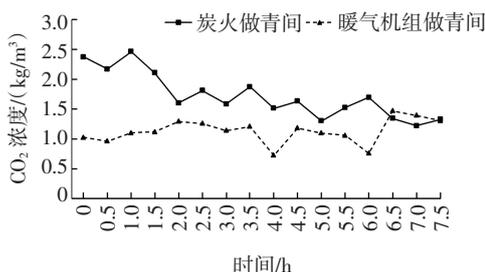


图3 做青间 CO2 浓度变化对比

Fig.3 Comparison of CO2 concentration changes between two fine-manipulation rooms

平均值均高于暖气机组做青间(高出 $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 2.6\text{ }^{\circ}\text{C}$);由图2可知,两种做青间的湿度差别不大;由图3可知,从做青开始到6.0h,炭火做青间的 CO_2 浓度平均值高于暖气机组做青间(高出 $0.024\text{ kg/m}^3\sim 1.346\text{ kg/m}^3$),这是由于炭火做青间采用炭火加温方式,木炭在燃烧的过程中产生大量的 CO_2 ,因此炭火做青间的 CO_2 浓度高于暖气机组做青间。

2.2 不同升温方式下大红袍做青过程酶活性的变化

2.2.1 多酚氧化酶活性的变化对比

多酚氧化酶(PPO)是茶叶中一种重要的酶,能够催化多酚类物质氧化生成茶黄素、茶红素等有色物质,从而影响茶叶品质。炭火做青间与暖气机组做青间大红袍做青过程PPO活性邻间变化率见表2。

由表2可知,在炭火做青间中,相邻工序鲜叶PPO活性变化幅度较大的有:晒青叶到萎凋叶(69.12%)、二静叶到三摇叶(-31.50%)、三摇叶到三静叶(70.34%)、三静叶到四摇叶(-38.06%)、五摇叶到五静叶(-30.88%);在暖气机组做青间中,一静叶到二摇叶(33.84%)、二摇叶到二静叶(-44.90%)、三摇叶到三静叶(58.63%)酶活性变化幅度较大。炭火做青间与暖气机组做青间大红袍做青过程PPO活性变化对比见图4。

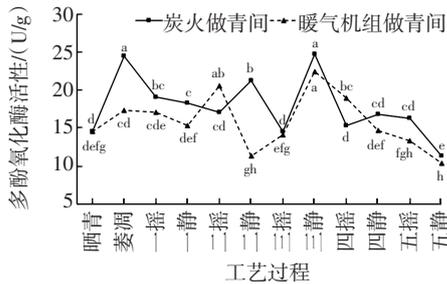
由图4可知,两个做青间大红袍的PPO活性总体的变化趋势基本一致,皆呈波动变化,均在第3次静置后酶活性达到最高,这是由于摇青导致叶缘摩擦、叶

表2 PPO活性邻间变化率

Table 2 Change rate of PPO activity in the neighborhood

工序	炭火做青间	暖气机组做青间
晒青	-	-
萎凋	69.12	19.58
一摇	-22.21	-1.54
一静	-4.02	-9.78
二摇	-6.94	33.84
二静	24.51	-44.90
三摇	-31.50	24.42
三静	70.34	58.63
四摇	-38.06	-15.35
四静	9.80	-22.71
五摇	-2.98	-9.11
五静	-30.88	-22.56

注:-表示未检出。



不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图4 PPO活性的变化对比

Fig.4 Comparison of PPO activity changes

片受损,青叶细胞液泡破损,酶促前体物质释放,增大底物浓度,从而多酚氧化酶活性增高^[15]。但到做青后期,两个做青间大红袍的PPO活性皆呈下降趋势,与晒青叶相比,炭火做青间和暖气机组做青间做青叶PPO活性皆显著降低,分别减少了22.11%、28.82%,这可能是由于做青后期茶多酚氧化,邻醌增多,邻醌等物质会抑制多酚氧化酶活性,使酶活性下降^[16-17]。从总体上看,炭火做青间多酚氧化酶活性高于暖气机组做青间,这可能是由于炭火做青间的平均温度高于暖气机组做青间,刘琨、陈盛虎等^[18-19]研究发现多酚氧化酶的最适反应温度为30℃,与炭火做青间温度更接近。对比晒青叶,大红袍萎凋叶的PPO活性增强,炭火做青间高于暖气机组做青间41.45%,结合两个做青间温度分析,可能是因为炭火做青间温度更高。但在第2次静置后酶活性差别较大,炭火做青间高于暖气机组做青间86.85%。做青结束时,两个做青间做青叶酶活性达到最低,两者之间差异显著($P < 0.05$)。

2.2.2 β-葡萄糖苷酶活性的变化对比

β-葡萄糖苷酶(β-G)是乌龙茶香气前体释放过程中的一种重要水解酶,其活性的高低对茶叶香气品质

影响较大。炭火做青间与暖气机组做青间大红袍做青过程β-G活性邻间变化率见表3。

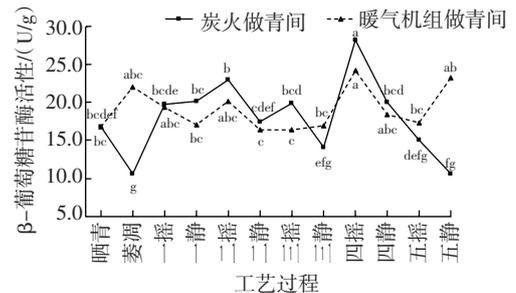
表3 β-G活性邻间变化率

Table 3 Change rate of β-G activity in the neighborhood

工序	炭火做青间	暖气机组做青间
晒青	-	-
萎凋	-37.19	31.08
一摇	86.77	-5.21
一静	1.74	-18.70
二摇	14.48	18.71
二静	-24.01	-19.08
三摇	13.88	0.31
三静	-29.24	3.11
四摇	99.94	43.22
四静	-29.07	-24.18
五摇	-24.77	5.56
五静	-29.64	33.89

注:-表示未检出。

由表3可知,在炭火做青间中,相邻工序鲜叶β-G活性变化幅度较大的有:晒青叶到萎凋叶(-37.19%)、萎凋叶到一摇叶(86.77%)、三静叶到四摇叶(99.94%);在暖气机组做青间中,晒青叶到萎凋叶(31.08%)、三静叶到四摇叶(43.22%)、五摇叶到五静叶(33.89%)β-G活性变化幅度较大。炭火做青间与暖气机组做青间大红袍做青过程β-G活性变化对比见图5。



不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图5 β-G活性的变化对比

Fig.5 Comparison of β-G activity changes

由图5可知,两个做青间的β-G活性在做青过程中的变化趋势基本一致,皆呈“降→升→降”趋势,均在第4次摇青结束时酶活性达到峰值,炭火做青间与暖气机组做青间的四摇叶酶活性分别为28.15、24.19 U/g,与晒青叶相比分别增加了67.26%、43.73%,皆具有显著差异。从总体上看,做青前、中期炭火做青间大红袍酶活性高于暖气机组做青间,结合做青环境参数分析这可能是由于炭火做青间平均温度高于暖气机组做青间,在一定的温度范围内,高温能够促进酶的活性;但到做青后期,暖气机组做青间大红袍五摇叶、五静叶酶活性高于炭火做青间,这可能是由升温方式的

不同影响青叶的呼吸作用和酶促反应导致的,炭火做青间由于温度和二氧化碳浓度较高,做青前期细胞酶促反应较活跃,使细胞过度失水导致酶蛋白变性,同时细胞膜透性增加,细胞质中生化环境发生改变,对水解酶活性产生抑制作用,所以炭火做青间 β -G活性下降^[12]。对比晒青叶,两个做青间大红袍萎凋叶、做青叶酶活性变化趋势皆为炭火做青间降低、暖气机组做青间升高。暖气机组做青间萎凋叶酶活性高于炭火做青间108.70%,两者之间差异显著($P<0.05$),结合表2分析这可能是由于炭火做青间萎凋叶PPO活性增强抑制 β -G活性^[14];做青结束时,炭火做青间酶活性显著降低,减少37.20%,暖气机组做青间明显升高,增加37.79%,暖气机组做青间做青叶酶活性高于炭火做青间119.39%,两者之间差异显著($P<0.05$)。

3 结论与讨论

炭火做青间的温度和 CO_2 浓度皆比暖气机组做青间高;对比晒青叶,两个做青间的PPO活性皆显著降低,而 β -G活性的变化不同,炭火做青间显著降低,暖气机组做青间明显升高。在做青过程中,PPO活性的变化趋势是先升高后下降, β -G活性在摇青阶段一般都高于静置阶段,这与禹利君等^[6]、黄福平等^[20]、杨锐^[21]的研究结果相一致;暖气机组做青间 β -G活性变化波动幅度小于炭火做青间,这与夏涛等^[22]的研究结果相似,在红茶萎凋期间,无论是低温(26℃)萎凋还是高温(35℃)萎凋, β -葡萄糖苷酶活性都有所增加,低温萎凋酶活性比高温萎凋酶活性增加的幅度小。做青结束时,炭火做青间酶活性显著降低,减少了37.20%,暖气机组做青间明显升高,增加了37.79%,暖气机组做青间做青叶酶活性高于炭火做青间119.39%,两者之间差异显著($P<0.05$)。这说明暖气机组升温能改善做青环境,延长做青过程中青叶的活力,促进香气物质的转化生成。今后可在现有理论上,与清洁化、智能化做青控制系统相结合,进一步探索有利于调控PPO和 β -G活性的做青环境和工艺参数,从而早日解决乌龙茶做青工艺不易掌握、品质不稳定等难题。

参考文献:

- [1] ZHOU Y, ZENG L T, LIU X Y, et al. Formation of (E)-nerolidol in tea (*Camellia sinensis*) leaves exposed to multiple stresses during tea manufacturing[J]. Food Chemistry, 2017, 231: 78-86.
- [2] VERLOOP A J W, VINCKEN J P, GRUPPEN H. Peroxidase can perform the hydroxylation step in the "oxidative cascade" during oxidation of tea catechins [J]. Journal of Agricultural and Food

Chemistry, 2016, 64(42): 8002-8009.

- [3] SU E Z, XIA T, GAO L P, et al. Immobilization of β -glucosidase and its aroma-increasing effect on tea beverage[J]. Food and Bioprocesses Processing, 2010, 88(2/3): 83-89.
- [4] WANG D, KUBOTA K, KOBAYASHI A, et al. Analysis of glycosidically bound aroma precursors in tea leaves. 3. Change in the glycoside content of tea leaves during the oolong tea manufacturing process[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(11): 5391-5396.
- [5] 魏新林,王元凤,王登良.做青温湿度对岭头单枞乌龙茶香气成分的影响[J].无锡轻工大学学报,2002(3):224-229.
- [6] 禹利君,史云峰,杨伟丽,等.乌龙茶做青期间多酚氧化酶、过氧化物酶的活性变化[J].茶叶科学,2001(2):130-133.
- [7] 王丽霞,肖丽霞.乌龙茶鲜叶萎凋过程中多酚氧化酶活性的变化[J].安徽农业科学,2008(23):10191-10192.
- [8] XU Y Q, LIU P P, SHI J, et al. Quality development and main chemical components of Tieguanyin oolong teas processed from different parts of fresh shoots[J]. Food Chemistry, 2018, 249: 176-183.
- [9] 张秀云,方生辉,夏涛.乌龙茶萎凋做青中 β -葡萄糖苷酶活性变化研究[J].安徽农业大学学报,2000(2):164-166.
- [10] 张正竹,宛晓春,施兆鹏,等.鲜茶叶摊放过程中呼吸速率、 β -葡萄糖苷酶活性、游离态香气和糖苷类香气前体含量的变化[J].植物生理学通讯,2003(2):134-136.
- [11] 骆耀平,董尚胜,童启庆,等.7个茶树品种新梢生育过程中 β -葡萄糖苷酶活性变化[J].茶叶科学,1997(S1):25-28.
- [12] 陈艺元.漳平永福高山乌龙茶品质形成机理研究[D].福州:福建农林大学,2014.
- [13] 柴洁,马存强,周斌星,等.普洱茶固态发酵过程中多酚氧化酶酶学活性研究[J].食品工业科技,2013,34(21):153-156,161.
- [14] 吴乔.乌龙茶做青对 β -葡萄糖苷酶活性及酶学性质的影响[D].福州:福建农林大学,2013.
- [15] 黄瑜萍,郭雅玲,林瑜玲,等. β -葡萄糖苷酶在茶叶加工过程中的研究进展[J].福建茶叶,2015,37(2):2-4.
- [16] 禹利君,史云峰,杨伟丽,等.乌龙茶做青期间多酚氧化酶、过氧化物酶的活性消长关系研究[J].福建茶叶,2001(2):13-16.
- [17] 黄皓,毛志方,涂云飞,等.做青过程中重要品质关联酶活性变化研究[J].茶叶,2007(4):207-210.
- [18] 刘琨.茶叶多酚氧化酶酶学特性及红外对其活力与构象的影响[D].无锡:江南大学,2013.
- [19] 陈盛虎,徐小云,伍梦瑶,等.茶叶多酚氧化酶同工酶热稳定性分析[J].湖北农业科学,2017,56(1):95-98.
- [20] 黄福平,梁月荣,陈荣冰,等.做青强度对做青叶蛋白质组成、多酚氧化酶和酯酶同工酶谱的影响[J].茶叶科学,2004(1):70-74.
- [21] 杨锐. β -葡萄糖苷酶对暑秋季新工艺乌龙茶品质影响研究[D].福州:福建农林大学,2007.
- [22] 夏涛,童启庆,董尚胜,等.红茶萎凋发酵中 β -葡萄糖苷酶的活性变化[J].茶叶科学,1996(1):63-66.

加工编辑:张璐

收稿日期:2020-06-03