

文章编号: 1000-7032(2013)02-0230-05

# 不同发酵时间普洱茶的表面增强拉曼光谱鉴别分析

郑 玲, 赵燕平\*

(华南师范大学 生物光子学研究院 &amp; 光子中医实验室, 广东 广州 510631)

**摘要:** 发现一种鉴定普洱茶不同发酵时间的快速、简便、科学的方法, 通过利用激光共聚焦拉曼光谱仪, 采用表面增强拉曼光谱技术(SERS), 在  $600 \sim 1\ 800\ \text{cm}^{-1}$  波数段分析了4种发酵时间普洱茶标准品的SERS光谱异同点, 发现在  $655, 732, 959, 1\ 238\ \text{cm}^{-1}$  等较为明显的特征峰处存在着明显的差异。研究了普洱茶发酵过程中茶多酚、含氮化合物、有机酸和糖类物质的含量变化规律, 通过SERS光谱分析, 为鉴定普洱茶的品质提供了一种科学、简便、快捷的光学方法。

**关键词:** 普洱茶; 表面增强拉曼光谱; 发酵时间; 鉴别

中图分类号: O657 文献标识码: A DOI: 10.3788/fgxb20133402.0230

## Identification of Pu'er Teas with Different Fermentation Time by Surface-enhanced Raman Scattering Technology

ZHENG Ling, ZHAO Yan-ping\*

(Laboratory of Photonic Chinese Medicine, College of Biophotonics,  
South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

\* Corresponding Author, E-mail: zhongyiysh@yahoo.com.cn

**Abstract:** We demonstrate a fast, simple and scientific method to identify the Pu'er teas with different fermentation time by using surface-enhanced Raman scattering (SERS) technology at range of  $600 \sim 1\ 800\ \text{cm}^{-1}$ . The results indicate that there exist many peaks at  $655, 732, 959, 1\ 238\ \text{cm}^{-1}$ . The relationship between fermentation time and the content of tea polyphenol, nitrogenous compounds, organic acid and sugar material in Pu'er teas are discussed. This way can provide a fast, simple and scientific optical method to identify the Pu'er teas with different fermentation time.

**Key words:** Pu'er tea; surface enhanced Raman scattering; fermentation years; identification

## 1 引 言

普洱茶历史悠久,起源于中国的云南省,现代普洱茶特指用云南大叶中晒青毛茶精制或蒸压成型后常年贮存发酵而获得的产品<sup>[1]</sup>。普洱茶具有抗辐射、抗氧化、延缓衰老、防治心脑血管疾病、

抗菌防龋、抗癌、降血脂的功效<sup>[2]</sup>。普洱茶具有多种生理功能是由于含有丰富的茶多酚物质<sup>[3]</sup>。据研究表明<sup>[4-6]</sup>,茶叶中的茶多酚物质具有消除炎症、预防肿瘤和治疗各种肿瘤的药物作用。因此茶多酚的含量多少决定着普洱茶的品质等级。

然而,不同发酵时间的普洱茶具有不同的茶

收稿日期: 2012-11-06; 修订日期: 2012-12-19

基金项目: 国家自然科学基金(81001546)资助项目

作者简介: 郑玲(1988-),女,湖南常德人,主要从事拉曼光谱方面的研究。

E-mail: sweet505028774@163.com



乎采集不到明显的普洱茶样品的特征峰信息。但是在加入了纳米银胶( $V(\text{茶溶液}):V(\text{银胶})=1:5$ )、采用表面增强拉曼光谱(SERS)技术之后,采集的SERS光谱信号大大增强,出现了较为明显的10个特征峰,峰间分离度较好,峰强较高,如图1(b)所示。说明利用纳米银胶的SERS达到了很好的增强效果。

表 1 普洱茶内部物质 SERS 光谱特征峰的归属

Table 1 Wavenumber and assignments of the band components of Pu'er tea obtained by SERS spectra analysis

发酵 时间/ a	多酚类物质(儿茶素) <sup>[11-12]</sup>			含氮化合物(氨基酸) <sup>[16]</sup>			糖类 <sup>[14]</sup>	不饱和脂肪酸 <sup>[13-14]</sup>		
	$\gamma(\text{CH}_2)$ $\gamma(\text{b-ring})$	$\gamma(\text{C-H}), \gamma(\text{b-ring}),$ $\nu(\text{b-ring})$	$\nu(\text{OH})$	$\delta(\text{COO}^-),$ $\delta(\text{C-N}), \delta(\text{COO}^-)$	$\nu(\text{NH}_3^+)$	$\delta(\text{CH}_2)$	$\nu(\text{CH})$	$\nu(\text{C=O})$		
1	732 s	1 013 sh	1 493 w	1 606 w	650 m	831 br	1 150 s	1 335 s	1 254 s	1 700 w
3	732 vs	959 s	1 463 w	1 576 w	649 m	838 br	1 138 s	1 328 s	1 249s	1 700 w
5	732 s	1 016 sh	1 495 w	1 606 w	655 m	827 br	1 151 s	1 335 s	1 253 s	1 700 w
7	732 s	1 044 sh	1 480 w	1 607 w	650 m	828 br	1 149 s	1 333 s	1 250 s	1 701 w

缩写:b-ring;苯环。

振动模式: $\nu$ ,拉伸震动; $\delta$ ,骨架平面内弯曲振动; $\gamma$ ,骨架平面外弯曲振动。

强度对照:w,弱;m,中;s,强;v,非常;sh,肩峰;br,宽。

### 3.2.2 SERS 光谱特性异同点分析

现代普洱茶贮藏发酵其实就是一个不停发生着各种化学反应的复杂过程,所以在不同发酵时

## 3.2 4 种样品的 SERS 光谱特性分析

### 3.2.1 SERS 光谱特征峰的归属

通过国内外学者对茶叶内部所含化学成分的儿茶素、氨基酸、糖类化合物和不饱和脂肪酸等的拉曼光谱分析以及对这些物质的化学键结构的研究,并且结合拉曼光谱特征峰振动的化学键归纳总结<sup>[11-16]</sup>,可以得出表1。

间的普洱茶内部营养物质的含量也各不相同,导致不同样品的SERS光谱也各有差异,详细的SERS光谱图如图2所示。

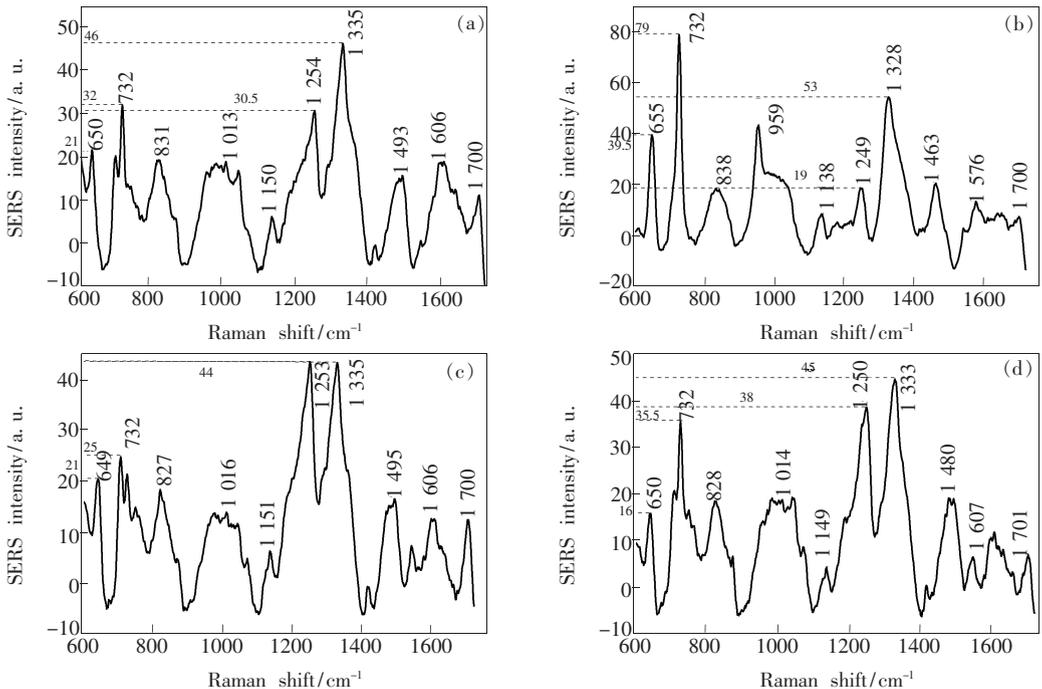


图 2 4 种不同发酵时间的普洱茶标准品的 SERS 光谱特性图。(a)1 年;(b)3 年;(c)5 年;(d)7 年。

Fig. 2 SERS spectra of Pu'er teas with four kinds of fermentation years. (a) 1 year, (b) 3 years, (c) 5 years, (d) 7 years.

从图2可以观察到:首先,虽然4个样品的发酵时间不同,但是SERS光谱的走势还是基本一致的,出现特征峰的拉曼位移也基本一致,4条SERS光谱线都出现了10个较为明显的特征峰。详细拉曼特征峰峰位可以参看表1。按照吸收峰的强弱来排序分别是:

图2(a):1 335,732,1 254,650,1 606,831,1 493,1 013,1 700,1 150  $\text{cm}^{-1}$ ;

图2(b):732,1 238,959,655,1 249,1 463,838,1 576,1 138,1 700  $\text{cm}^{-1}$ ;

图2(c):1 335,1 253,732,649,827,1 495,1 016,1 606,1 700,1 151  $\text{cm}^{-1}$ ;

图2(d):1 333,1 250,732,828,1 480,1 014,650,1 607,1 701,1 149  $\text{cm}^{-1}$ 。

在图2(b)发酵3年普洱茶的SERS光谱图中,在959  $\text{cm}^{-1}$ 处有一个尖锐的特征峰,峰间分离度很好,并且强度较高,但是在发酵1年、5年、7年的3个SERS光谱图中却出现了一个宽而钝的峰(1 013,1 016,1 014  $\text{cm}^{-1}$ )。由表1可知,这个波数的拉曼特征峰是由于儿茶素中的 $\gamma(\text{H}-\text{C}-\text{H})$ 化学键骨架平面外弯曲振动和苯环的拉伸振动所产生的,所以此处发酵3年的普洱茶的特征峰的化学键振动相对强度要高于其他3

个年份的普洱茶,即儿茶素物质的相对含量要高于其他发酵年份的普洱茶。

SERS光谱图中强度最高的特征峰分别是图2(a):1 335  $\text{cm}^{-1}$ (46);图2(b):732  $\text{cm}^{-1}$ (79);图2(c):1 335  $\text{cm}^{-1}$ (44);图2(d):1 333  $\text{cm}^{-1}$ (45)。图2(a)、(c)、(d)中的最强峰均是由处在1 333~1 335  $\text{cm}^{-1}$ 的糖类物质的 $\delta(\text{CH}_2)$ 振动引起的特征峰,只有图2(b)发酵3年的普洱茶是由儿茶素的苯环和 $\gamma(\text{CH}_2)$ 在732  $\text{cm}^{-1}$ 处的振动引起,并且其相对强度(79)最高。所以由此可以证明,发酵3年的普洱茶在732  $\text{cm}^{-1}$ 处的化学键振动最为强烈,具有最为丰富的儿茶素含量。

另外,在4幅图中,比较糖类物质的特征峰带1 328~1 335  $\text{cm}^{-1}$ 和不饱和脂肪酸的特征峰带1 249~1 254  $\text{cm}^{-1}$ ,图2(a)、(b)、(d)均呈现出强度1 328~1 335  $\text{cm}^{-1}$ 峰带高于1 249~1 254  $\text{cm}^{-1}$ 峰带,而图2(c)发酵5年的普洱茶表现出的是两处的特征峰强度完全相等。

以4条谱线中比较尖锐的有机酸特征峰为基础特征峰,考虑其中3个比较明显的特征峰相对强度,取SERS光谱的特征峰相对强度 $\beta = I_x/I_y$ ,可以得出1个相对强度的数值,如表2所示。

表2 4种不同发酵时间普洱茶样品的明显特征峰的相对强度数值

Table 2 Relative intensity value of SERS spectra bands of Pu'er teas with four kinds of fermentation years

4种不同发酵时间普洱茶	相对强度 $\beta$			
	A	B	C	D
1年	$I_{1335}/I_{1254} = 1.5082$	$I_{732}/I_{1254} = 1.0492$	$I_{650}/I_{1254} = 0.6885$	$I_{1254} = 30.5$
3年	$I_{1328}/I_{1249} = 2.7895$	$I_{732}/I_{1249} = 4.1579$	$I_{655}/I_{1249} = 2.0789$	$I_{1249} = 19$
5年	$I_{1335}/I_{1253} = 1.0000$	$I_{732}/I_{1253} = 0.5682$	$I_{649}/I_{1253} = 0.4773$	$I_{1253} = 44$
7年	$I_{1333}/I_{1250} = 1.1842$	$I_{732}/I_{1250} = 0.9342$	$I_{650}/I_{1250} = 0.4211$	$I_{1250} = 38$

从表2的对比分析可以看出:A比较的是1 328~1 335  $\text{cm}^{-1}$ 峰范围的相对强度,该处是由茶叶中的糖类化合物的 $\delta(\text{C}-\text{H})$ 骨架平面内弯曲振动引起的。4个发酵年份的普洱茶的SERS光谱在这个糖类物质特征峰范围的相对强度排序为3年>1年>7年>5年;B比较的是732  $\text{cm}^{-1}$ 峰的相对强度,该处峰形很尖锐,相对强度很高,是由茶叶中的儿茶素中的芳香环 $\gamma(\text{b-ring})$ 和 $\gamma(\text{H}-\text{C}-\text{H})$ 骨架平面外弯曲振动引起的,相对强度排序为3年>1年>7年>5年;C在649~655  $\text{cm}^{-1}$ 附近出现了非常明显的特征峰,是由茶叶中具有 $\delta(\text{COO}^-)$ 、 $\delta(\text{C}-\text{N})$ 和酰胺带的含氮化合物

振动引起的,相对强度排序为3年>1年>5年>7年;D为茶叶中的有机酸物质的 $\nu(\text{CH})$ 在1 249~1 254  $\text{cm}^{-1}$ 引起的特征峰,相对强度数值排序为5年>7年>1年>3年。众所周知,在拉曼光谱中某物质的特征峰的强度高对应着该物质的相对含量的多少,所以由4个不同发酵时间的普洱茶的标准品的SERS光谱的相对强度(表2)分析可知:发酵3年的普洱茶标准品具有相对含量最为丰富的儿茶素、含氮化合物和糖类物质等;而有机酸则呈现出发酵3年是具有最低含量的一个转折点,过了3年之后则呈现出增加的趋势。

## 4 结 论

利用 SERS 在  $600 \sim 1\,800\text{ cm}^{-1}$  波段对不同发酵时间的普洱茶进行了光学鉴别分析。通过比较 Raman 和 SERS 可知, SERS 具有明显的增强效果。4 个发酵时间的普洱茶具有走势一致的 SERS 光谱, 表明发酵过程中普洱茶的主要组成成分基本一致。通过分析茶叶内部  $732, 650, 1\,333, 1\,250\text{ cm}^{-1}$  4 处强度较高特征峰的振动情况, 可以得出茶叶中儿茶素、含氮化合物、糖类物质、有机酸 4 种主要物质特征峰振动的相对强度

的排序, 从而可以推断出相对物质含量的多少, 得出发酵 3 年的普洱茶具有最为丰富的儿茶素、含氮化合物和糖类物质, 也即具有最好的茶叶品质。实验结果表明: 普洱茶“越陈越香”的传统说法有一定的时间限制, 至少在少于 10 年的发酵时间内是不成立的, 反而是发酵 3 年的普洱茶具有最为丰富的含有茶香味的茶多酚物质。本文的分析可以为快速、简便、准确地鉴别不同发酵时间的普洱茶提供科学的参考依据。

**致谢:**感谢华南师范大学生物光子学研究院刘颂豪院士、赵燕平副教授提供的悉心指导。

## 参 考 文 献:

- [ 1 ] Luo R, Shao W F. A discussion on the history of Yunnan Pu'er tea [J]. *J. Tea* (茶叶), 2006, 32(2):112-115 (in Chinese).
- [ 2 ] Ning J M, Zhang Z Z, Wang S P, *et al.* Identification of Pu'er teas with different storage years by FTIR spectroscopy[J]. *Spectrosc. Spectr. Anal.* (光谱学与光谱分析), 2011, 31(9):2390-2393 (in Chinese).
- [ 3 ] Yi L, Huang J N, Liu Z H. The research of polyphenols and theabrownin in Pu'er tea [J]. *Food and Nutrition in China* (中国食物与营养), 2009, 12(1):29-31 (in Chinese).
- [ 4 ] Khan N, Mukhtar H. Tea polyphenols for health promotion [J]. *Life Sci.*, 2007, 81(7):519-533.
- [ 5 ] Lambert J D, Elias R J. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention [J]. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2010, 501(1):65-72.
- [ 6 ] Luo F J, Cao Y. The molecular mechanism research progress of tea polyphenols inhibit the proliferation of tumor cells [J]. *Foreign Medical Sciences: Section of Pathophysiology and Clinical Medicine* (国外医学:生理病理科学与临床分册), 2001, 21(4):251-253 (in Chinese).
- [ 7 ] Zhou L J, Hou C Y, Qiao Y H, *et al.* Functional properties of Pu-erh tea with different storage years [J]. *Food Sci.* (食品科学), 2010, 31(13):19-21 (in Chinese).
- [ 8 ] Wu Z H, Huang D Z, Chen C W, *et al.* Red blood cells in patients with myocardial infarction using optical tweezers Raman spectroscopy [J]. *Chin. J. Lumin.* (发光学报), 2011, 32(10):1088-1092 (in Chinese).
- [ 9 ] Fan J L, Guo S G, Liu X L, *et al.* Study on spectroscopy of natural and treated jadeite [J]. *Laser & Infrared* (激光与红外), 2007, 37(8):769-772 (in Chinese).
- [ 10 ] Chetan S, Frank I, Atanu S, *et al.* Rapid extraction and detection of trace chlorpyrifos-methyl in orange juice by surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. *Sens. Instrumen. Food Qual.*, 2010, 4(3/4):101-107
- [ 11 ] Jurasekova Z, Domingo C, García-Ramos J V, *et al.* Vibrational spectroscopy as an analytical tool in the identification and characterization of natural dyes employed in the cultural heritage [J]. *Coalition*, 2007, 14:14-20
- [ 12 ] Torreggiani A, Jurasekova Z, Sanchez-Cortes S, *et al.* Spectroscopic and pulse radiolysis studies of the antioxidant properties of (+) catechin; Metal chelation and oxidizing radical scavenging [J]. *J. Raman Spectrosc.*, 2008, 39(1):265-275
- [ 13 ] Edwards H G M, Villar S E J, de Oliveira L F C, *et al.* Analytical Raman spectroscopic study of cacao seeds and their chemical extracts [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 538(1):175-180
- [ 14 ] Ram M S, Dowell F E, Seitz L M. FT-Raman spectra of unsoaked and NaOH-soaked wheat kernels, bran, and ferulic acid [J]. *Cereal. Chem.*, 2003, 80(1):188-192.
- [ 15 ] Canamares M V, Leona M, Bouchard M, *et al.* Evaluation of Raman and SERS analytical protocols in the analysis of Cape Jasmine dye (*Gardenia augusta* L.) [J]. *J. Raman Spectrosc.*, 2010, 41(4):391-397.
- [ 16 ] Chen Y J, Chen R, Li Y Z, *et al.* Raman spectra analysis of theanine [J]. *Spectrosc. Spectr. Anal.* (光谱学与光谱分析), 2011, 31(11):2961-2964 (in Chinese).