茯砖茶呈香挥发性物质及其来源

蒋容港[1,2,3]，黄 燕[4]，金友兰[1,2,3]，李永迪[1]，黄建安[1,3]，李 勤[*1,2,3]

（1. 湖南农业大学 茶学教育部重点实验室，湖南 长沙 410128；2. 湖南农业大学 国家植物功能成分利用工程技术研究中心，湖南 长沙 410128；3. 湖南农业大学 植物功能成分利用省部共建协同创新中心，湖南 长沙 410128；4. 湖南省益阳茶厂有限公司，湖南 益阳 413043）

摘要：以茯砖茶及其分离出的“金花”菌体和去“金花”纯茶为研究对象，采用感官审评、固相微萃取、气相色谱-质谱联用、香气活力值分析结合化学计量学方法，研究茯砖茶呈香挥发性物质及其来源。结果表明：茯砖茶特征香气是由“金花”菌体和去“金花”纯茶中香气成分共同作用形成的，二者缺一不可。茯砖茶、“金花”菌体和去“金花”纯茶中共定量鉴定出 59 种挥发性成分，醇类和酯类化合物在茯砖茶和“金花”菌体中含量最高，而醇类和醛类化合物在去“金花”纯茶中含量最高，OAV 分析显示其中 16 种挥发性成分为茯砖茶的呈香挥发性物质。结合多元统计分析，筛选出去“金花”纯茶和“金花”菌体中含量差异显著的 7 种呈香挥发性成分，包括去“金花”纯茶中富含的己醛和(*E*,*E*)-2,4-辛二烯醛主要贡献了茯砖茶的青草气属性，“金花”菌体中富含的苯甲醇、芳樟醇、雪松醇、1-辛稀-3-醇和水杨酸甲酯主要贡献了茯砖茶的花香、木香、蘑菇香和冬青香属性。

关键词：茯砖茶；特征香气；呈香挥发性物质；香气来源

中图分类号：TS 272.5+4　**文章编号：**1673-1689(2021)09-0101-11　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.09.013

Study of Aroma Compounds and Their Source in Fu Brick Tea

JIANG Ronggang[1,2,3]，*HUANG Yan*[4]，*JIN Youlan*[1,2,3]，*LI Yongdi*[1]，*HUANG Jian'an*[1,3]，*LI Qin*[*1,2,3]

(1. Key Lab of Education Ministry of Hunan Agricultural University for Tea Science , Changsha 410128, China; 2. National Research Center of Engineering and Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 3. Co-Innovation Center of Education Ministry for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 4. Hunan Yiyang Tea Processing Factory Co., Ltd., Yiyang 413043, China)

Abstract: This study analyzed Fu brick tea, and the ‘Golden flower’(*Eurotium cristatum*) as well as the tea base without ‘Golden flower’ isolated from Fu brick tea, detecting their volatile compounds by sensory evaluation, solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC- MS), odor active value (OAV) and chemometric methods to explore the key aroma compounds and their source in Fu brick tea. The result of sensory evaluation indicated that the characteristic aroma of Fu brick tea was formed by the combination of aroma compounds from the

收稿日期：2020-09-07

基金项目：国家自然科学基金项目(31871764)；国家“十三五”重点研发计划项目(2017YFD0400803，2018YFC1604403)；湖南省自然科学基金项目(2018JJ2181)；湖南农业大学“1515 人才计划”共同资助项目。

***通信作者：**李 勤(1983—)，男，博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事茶叶品质化学与资源利用研究。E-mail：liqinvip@126.com

'Golden flower' and the tea base without 'Golden flower', and neither was dispensable. In total, 59 volatile compounds were identified and quantified in samples. Alcohols and esters were the dominant volatiles in Fu brick tea and the 'Golden flower'. However, alcohols and aldehydes dominated in the tea base without 'Golden flower'. Among them, 16 volatile components were aroma compounds of Fu brick tea as identified by OAV analysis. Combined with the multivariable statistics analysis, 7 volatile aroma components with significant content difference were screened out in the tea base without 'Golden flower' and the 'Golden flower'. Hexanal and(*E*,*E*)-2,4-Octadienal originated from the tea base without 'Golden flower' mainly contributed to the grassy flavor in Fu brick tea, while benzyl alcohol, linalool, cedrol, 1-octen-3-ol and methyl salicylate originated from the 'Golden flower' mainly contributed to floral, woody, and the smell of mushroom and wintergreen in Fu brick tea.

Keywords: Fu brick tea, characteristic aroma, aroma compounds, aroma source

茯砖茶是以黑毛茶为原料,经气蒸、渥堆、压砖、发花(发酵)和干燥等工序加工而成[1]。"发花"是茯砖茶独特的加工工序,其实质是通过控制环境温湿度促使优势微生物冠突散囊菌(*Eurotium cristatum*)大量生长繁殖形成"金花",进而催化茶叶内含物质的转化,形成茯砖茶特有的品质风味[2]。"金花"的数量和质量是判别茯砖茶品质优劣的重要特征性指标[3]。

香气是决定茶叶品质最重要的关键因素之一[4-5]。茯砖茶香气成分以醇类、醛类、酮类等化合物为主[6-10]。茯砖茶特征香气"菌花香"是一种复合型香气类型,是在黑毛茶香气基础上,增加了陈香、花香和火功香,最终协调而成[11]。有研究表明,经"发花"工序后,茯砖茶中酮类、萜烯醇类、酮类、杂氧类化合物含量显著增加,推测这些挥发性成分的增加与茯砖茶特征香气形成有关[7,11]。但是,茯砖茶特征香气的呈香物质种类以及来源鲜见详细报道。

本研究中以茯砖茶及其分离的"金花"菌体和去"金花"纯茶为研究对象,采用感官审评、固相微萃取(Solid phase microextraction,SPME)、气相色谱-质谱联用(Gas chromatograph-mass spectrometer,GC-MS)、香气活力值(Odor active values,OAV)结合化学计量学方法,研究茯砖茶特征香气的呈香物质及其来源,以期为"菌花香"的形成机制提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 样品及制备 湖南益阳茶厂有限公司生产的机制茯砖茶购于长沙县星沙镇三壶茶行。将整块茯砖茶破碎成小块,采用茶针将茶叶中"金花"轻轻挑下,使茶叶与"金花"分离,并过 100 目筛,得到茯砖茶、去"金花"纯茶和"金花"菌体 3 种待测样品,如图 1 所示。



(a) 茯砖茶 (b) 去"金花"纯茶 (c) "金花"菌体

图 1 茯砖茶、去"金花"纯茶和"金花"菌体样品

Fig. 1 Fu brick tea, tea base without 'Golden flower' and 'Golden flower'

1.1.2 实验试剂 C8~C40 偶数正构烷烃标准品:美国 o2si 公司产品;癸酸乙酯、1-辛烯-3-醇、苯甲醇、雪松醇、苯甲醛、苯乙酮、β-紫罗酮、水杨酸甲酯:美国 Sigma-Aldrich 试剂公司产品;α-松油醇、芳樟醇、苯乙醇、香叶醇、己醛、庚醛、(*E*,*E*)-2,4-庚二烯醛、(*E*)-2-壬烯醛、β-环柠檬醛、癸醛、2-庚酮、甲基庚烯酮、茶香酮、6-甲基-3,5-庚二烯-2-酮、对甲基苯乙酮、α-紫罗酮、2-十一烷酮、香叶基丙酮、萘、2-甲基萘、1-甲基萘、1,2,3-三甲氧基苯、二苯并呋喃、棕榈酸乙酯、二氢猕猴桃内酯、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚:北京 J&K 公司产品;香叶酸甲

酯:上海安普实验科技股份有限公司产品;乙醇(色谱纯)、氯化钠:国药集团化学试剂有限公司产品。

1.1.3 实验器材 7890B/7693 型气相色谱-质谱联用仪:美国Agilent 公司产品;手动 SPME 进样器、65 μm PDME/DVB 固相微萃取头:美国 Supelco 公司产品;AE240 型电子天平:瑞士 Mettler 公司产品;984TA7CHSEUA 型陶瓷加热面板磁力搅拌器:美国 Talboys 公司产品;LDP-350 型高速多功能粉碎机:浙江永康市红太阳机电有限公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 感官审评 根据 GB/T 23776—2018《茶叶感官审评方法》中的方法[12],由 5 名专业人员对样品的外形、汤色、香气、滋味进行感官审评。

1.2.2 固相微萃取法 参考 Xu 等的方法[13]。将固相微萃取头在气相色谱仪的进样口经 250 ℃老化 0.5 h 备用;称取样品 1.000 g 置于 15 mL 顶空瓶中,加入转子,再加入 5 mL 煮沸去离子水和 0.500 g NaCl,然后加入 10 μL 癸酸乙酯(8.64 mg/L)作为内标,以带聚四氟乙烯垫片的盖子密封,摇匀。放在磁力加热搅拌器(顶空加热平台)上,加热板温度 60 ℃,转速 600 r/min,将固相微萃取头插入顶空瓶顶空部位,平衡 10 min 后推出纤维头,纤维头离液面约 1 cm,调整萃取时间和萃取温度。萃取完成后收回纤维头,立即插入气相色谱(GC)进样口,于 230 ℃下解析 5 min。所有样品重复 3 次。

1.2.3 GC-MS 分析条件 GC 条件:色谱柱 HP-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm),载气为氦气(纯度>99.999%),进样口温度 250 ℃,柱流量 1 mL/min,脉冲不分流;起始温度 40 ℃保持 3 min,以 3 ℃/min 升到 80 ℃,以 2 ℃/min 升到 90 ℃,以 3 ℃/min 升到 150 ℃,以 5 ℃/min 升到 180 ℃,15 ℃/min 升到 230 ℃,保持 2 min,溶剂延迟 3 min。

MS 条件:离子源 EI,离子源温度 230 ℃;接口温度 250 ℃;EI 源能量 70 eV;电子倍增器电压 1 104 V;质量扫描范围(*m/z*)35~400;定量采用选择离子扫描,每个物质选择一个定量离子,两个定性离子。

1.2.4 空白基质的制备 参照 Du 等的方法,称取 QC 样品 50 g 于 1 L 圆底烧瓶,加水 300 mL,用旋转蒸发仪在低温下(40~50 ℃)不断补水旋蒸,定时取样检测,直至检测不到挥发性成分(信噪比<3),冷冻干燥后作为空白基质[14]。

1.2.5 定性定量方法

1)定性方法 由 GC-MS 分析得到各色谱峰的质谱信息与 NIST17 标准谱库进行检索比对,匹配指数大于 80%作为物质鉴定标准;根据保留指数计算公式[15],结合保留时间求出各待测物质的保留指数(RI),并通过文献以及数据库的保留指数进行鉴定;将待测物质的特征离子以及 RI 与标准品比较进行定性。

2)定量方法 定量标准曲线:采用空白基质配制 5 个不同质量浓度的标准品溶液,以标准品溶液质量浓度为横坐标,标准品峰面积与内标峰面积比值为纵坐标,建立标准曲线。34 种挥发性成分的标准曲线 R^2 值为 0.990 1~0.999 9,说明建立的标准曲线可以很好地对待测物质进行定量分析。将混标溶液用无水乙醇稀释为一系列质量浓度溶液,吸取不同质量浓度混标溶液 20 μL 到装有空白基质的顶空瓶中,同时加入 20 μL 内标溶液,在优化条件下进行萃取,然后经 GC-MS 分析测定。以标准品质量浓度为横坐标,标准品峰面积与内标峰面积比为纵坐标,建立标准曲线,通过目标峰面积与内标峰面积比值即可算出目标峰质量浓度。具有标准品的化合物采用标准曲线外标法定量;对于不具有标准品的物质,采用官能团相同、碳原子数相近的标准品进行估算[16]。

1.2.6 OAV 计算 OAV 为某香气成分的质量浓度与其嗅觉阈值的比值[17],按下式计算:

$$OVA=\frac{C}{OT}$$

式中:C 为香气成分的质量浓度,μg/L;OT 为该香气成分的阈值,μg/L。

1.3 数据分析

采用 SPSS 20 数据处理软件(IBM)进行方差分析(Analysis of variance,ANOVA);采用 SIMCA-P 14.1 软件进行主成分分析(Principal component analysis,PCA)、层序聚类分析(Hierarchical cluster analysis,HCA)和偏最小二乘判别分析(Partial least squares-discrimination analysis,PLS-DA);$P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 感官审评

感官审评结果表明(见表 1),茯砖茶、“金花”菌

表 1　感官审评

Table 1　Sensory evaluation

样品	外形	香气	汤色	滋味
茯砖茶	褐黑,带金花	菌花香	橙红,较亮	木质味,略带涩味
“金花”菌体	金黄明亮,夹杂茶坯颗粒	花香,蘑菇香,略带菌花香	浅黄,欠亮,稍浊	醇正,略带甜味
去“金花”纯茶	褐黑,油润	青草气,带木香	橙红,明亮	木质味

体和去“金花”纯茶的香气感官属性明显不同。茯砖茶香气呈现典型的菌花香，带木香，略带泥土味；“金花”菌体香气呈现花香,蘑菇香,略带菌花香;去“金花”纯茶香气呈现青草气,带木香,无菌花香。由此可见,茯砖茶特征香气“菌花香”是去“金花”纯茶和“金花”菌体中呈香挥发性成分共同作用的结果,二者对茯砖茶特征香气的形成均具有重要作用。

2.2　挥发性成分定性定量分析

定性分析表明(见表 2),茯砖茶、去“金花”纯茶、“金花”菌体共鉴定 59 种挥发性成分,其中醇类化合物 13 种,酮类化合物 16 种,醛类化合物 9 种,碳氢化合物 9 种,酯类化合物 5 种,杂氧类化合物 3 种,酚类化合物 1 种、吡咯类化合物 1 种、含氮类化合物 1 种、内酯类化合物 1 种。

定量分析表明(见图 2),茯砖茶、去“金花”纯茶、“金花”菌体中挥发性成分质量浓度较高的均为醇类化合物,分别含有(1 546.09±16.82)、(1 267.06±40.55)、(2 993.64 ±167.05) μg/L，占比分别为(41.43±0.50)%、(35.58±0.84)%、(53.43±0.22)%;酯类化合物是茯砖茶和“金花”菌体中含量(质量浓度)次高的挥发性成分,分别含有(582.14±14.66)、(1 227.06±25.23) μg/L,占比分别为(15.60±0.41)%、(21.93±0.82)%。而去“金花”纯茶中醛类化合物是含量(质量浓度)次高的挥发性成分,含有(662.91±80.87) μg/L,占比(18.58±0.58)%。苯甲醇、二氢猕猴桃内酯、水杨酸甲酯、苯乙醇、氧化芳樟醇 II、棕榈酸乙酯、氧化芳樟醇 I、芳樟醇、己醛和雪松醇是含量(质量浓度)最高的前 10 种挥发性化合物。其中,茯砖茶中含量(质量浓度)最高的挥发性成分是水杨酸甲酯,其质量浓度达到(444.670±11.335) μg/L,占比 (11.59 ±0.26)%；其次是二氢猕猴桃内酯(417.627±53.746) μg/L 占比(10.89±1.44)%、苯甲醇(318.510±10.921) μg/L(占比(8.51±0.37)%)、氧化芳樟醇Ⅱ (276.493±23.249) μg/L (占比 (7.39±0.57)%) 和苯乙醇 (241.950±15.931) μg/L (占比(6.47±0.47)%)。去“金花”纯茶中含量(质量浓度)最高的挥发性成分是二氢猕猴桃内酯,其质量浓度达到(533.764±23.968) μg/L(占比(14.43±1.01)%);其次是苯甲醇 (291.220±22.865) μg/L (占比 (7.86±0.48)%)、水杨酸甲酯(261.959±15.198) μg/L(占比(7.35±0.25)%)、己醛(219.780±41.828) μg/L(占比(6.14±1.00)%)和苯乙醇(213.676±5.412) μg/L(占比(6.00±0.18)%)。“金花”菌体含量(质量浓度)最高的挥发性成分是苯甲醇,其质量浓度达到(1 143.638±84.668) μg/L(占比(20.32±0.46)%);其次是棕榈酸乙酯(707.180±9.818) μg/L(占比(11.81±2.09)%)、苯乙醇 (639.930 ±61.847) μg/L (占比 (11.36±0.52)%)、水杨酸甲酯(453.938±34.685) μg/L(占比(8.20±0.25)%)和二氢猕猴桃内酯(435.912±17.448) μg/L(占比(7.89±0.16)%)。由此可见,茯砖茶、去“金花”纯茶和“金花”菌体三者在挥发性成分组成上类似,但含量差异较大。

表 2　挥发性成分定性定量

Table 2　Identified and quantified of volatile compounds

序号	化合物	实测/理论保留指数	定性方式	质量浓度/(μg/L)			类别
				茯砖茶	去“金花”纯茶	“金花”菌体	
V01	苯甲醇	1 030/1 034	MS,RI,STD	318.510±10.921	291.220±22.865	1 143.638±84.668	醇
V02	香叶醇	1 254/1 256	MS,RI,STD	7.966±0.421	6.865±0.285	13.077±0.382	醇
V03	庚醛	894/901	MS,RI,STD	23.845±1.104	51.459±2.463	—	醛
V04	氧化芳樟醇 III	1 167/1 069	MS,RI	49.525±1.802	36.636±1.029	68.011±2.588	醇
V05	氧化芳樟醇 IV	1 174/1 075	MS,RI	76.183±0.977	62.902±2.882	108.149±5.755	醇
V06	1-辛烯-3-醇	978/979	MS,RI,STD	2.167±0.119	1.089±0.207	33.242±2.476	醇
V07	氧化芳樟醇 II	1 086/1 087	MS,RI	276.493±23.249	206.327±10.781	319.972±24.600	醇

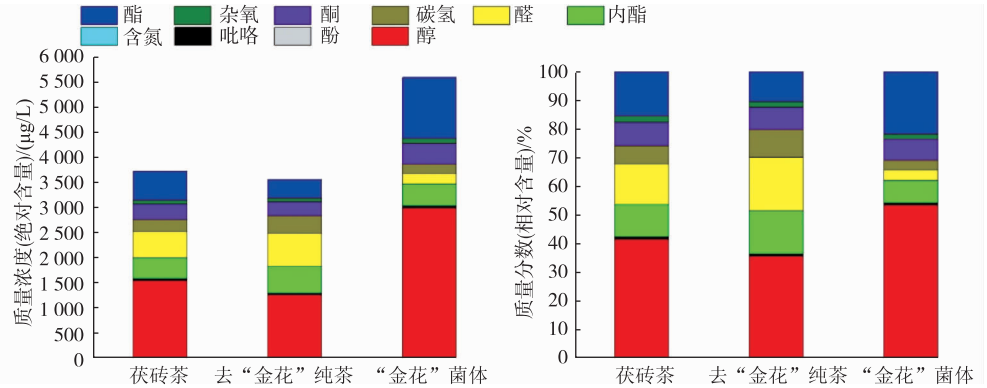
续表 2

序号	化合物	实测/理论保留指数	定性方式	质量浓度/(μg/L)			类别
				茯砖茶	去“金花”纯茶	“金花”菌体	
V08	2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-乙醇	1 330/1 334	MS,RI	2.439±0.306	1.833±0.017	2.695±0.435	醇
V09	喇叭茶醇	1 401/—	MS	3.896±0.189	3.941±0.079	4.231±0.222	醇
V10	氧化芳樟醇 I	1 069/1 072	MS,RI	204.313±19.416	153.201±8.864	238.174±15.096	醇
V11	苯乙醇	1 110/1 110	MS,RI,STD	241.950±15.931	213.676±5.412	639.930±61.847	醇
V12	雪松醇	1 596/1 598	MS,RI,STD	154.403±10.947	106.247±23.738	174.425±8.103	醇
V13	芳樟醇	1 099/1 098	MS,RI,STD	161.308±9.711	108.811±12.544	185.188±17.924	醇
V14	α-松油醇	1 188/1 188	MS,RI,STD	23.091±0.452	22.852±1.956	29.580±0.935	醇
V15	2,4-二叔丁基苯酚	1 511/1 514	MS,RI,STD	11.188±2.087	9.280±0.919	11.952±0.817	酚
V16	茶吡咯	1 048/—	MS,RI	24.784±1.419	20.264±1.626	28.370±4.584	吡咯
V17	咖啡因	1 846/1 840	MS,RI	1.691±0.411	1.358±0.031	4.389±0.297	含氮
V18	二氢猕猴桃内酯	1 523/1 526	MS,RI,STD	417.627±53.746	533.764±23.968	435.912±17.448	内酯
V19	苯甲醛	954/957	MS,RI,STD	96.537±3.186	101.509±14.070	47.581±10.984	醛
V20	癸醛	1 205/1 205	MS,RI,STD	—	—	2.144±0.282	醛
V21	臧红花醛	1 196/1 196	MS,RI	48.401±1.749	49.780±4.371	42.979±1.752	醛
V22	(*E*)-2-壬烯醛	1 159/1 159	MS,RI,STD	—	—	1.759±0.850	醛
V23	(*E*,*E*)-2,4-辛二烯醛	1 008/—	MS	128.187±3.413	180.833±17.366	50.618±13.220	醛
V24	(*E*,*E*)-2,4-庚二烯醛	992/990	MS,RI,STD	65.132±3.319	88.142±3.504	38.064±15.905	醛
V25	β-环柠檬醛	1 217/1 218	MS,RI,STD	23.937±0.904	22.866±1.584	24.023±1.495	醛
V26	己醛	799/<800	MS,RI,STD	164.606±3.096	219.780±41.828	—	醛
V27	蒽	1 772/1 765	MS,RI	—	—	0.121±0.012	碳氢
V28	1,1,6-三甲基-1,2-二氢萘	1 348/1 349	MS,RI	41.633±2.424	34.245±3.053	45.131±4.816	碳氢
V29	α-柏木烯	1 409/1 411	MS,RI	134.612±7.089	138.300±15.823	114.360±22.815	碳氢
V30	α-紫罗烯	1 352/1 352	MS,RI	9.243±0.560	7.042±0.815	9.288±1.344	碳氢
V31	*D*-柠檬烯	1 026/1 027	MS,RI	9.228±0.467	9.748±0.376	8.663±0.212	碳氢
V32	十七烷	1 698/1 700	MS,RI	41.687±6.482	155.771±13.932	4.033±1.831	碳氢
V33	1-甲基萘	1 302/1 302	MS,RI,STD	—	0.044±0.018	0.299±0.043	碳氢
V34	萘	1 176/1 178	MS,RI,STD	—	—	1.866±0.253	碳氢
V35	2-甲基萘	1 286/1 287	MS,RI,STD	—	—	0.291±0.063	碳氢
V36	4-(2,4,4-三甲基环己-1,5-二烯基)-丁-3-烯-2-酮	1 429/—	MS	2.517±0.042	2.792±0.139	2.200±0.034	酮
V37	2-庚酮	883/884	MS,RI,STD	3.078±0.224	4.369±0.216	—	酮
V38	甲基庚烯酮	986/979	MS,RI,STD	32.715±1.921	32.418±4.615	102.374±7.222	酮
V39	2-十一烷酮	1 293/1 294	MS,RI,STD	0.443±0.033	0.627±0.051	3.226±0.197	酮
V40	茶香酮	1 141/1 142	MS,RI,STD	3.367±1.614	3.111±0.109	6.361±0.980	酮
V41	4-(2,6,6-三甲基环己-1,3-二烯基)-丁-3-烯-2-酮	1 481/1 483	MS,RI	0.418±0.019	0.373±0.015	0.999±0.085	酮
V42	对甲基苯乙酮	1 181/1 181	MS,RI,STD	2.080±0.075	1.902±0.025	3.631±0.131	酮
V43	α-紫罗酮	1 425/1 428	MS,RI,STD	21.713±0.619	22.010±0.776	20.830±0.069	酮
V44	二氢-β-紫罗酮	1 436/1 438	MS,RI	0.270±0.010	0.245±0.023	0.271±0.011	酮
V45	香叶基丙酮	1 452/1 455	MS,RI,STD	—	15.536±2.392	35.233±3.690	酮
V46	优葛缕酮	1 215/—	MS	37.685±2.656	24.810±1.617	46.665±2.616	酮
V47	樟脑	1 140/1 145	MS,RI	15.071±0.550	22.220±4.054	19.781±4.262	酮
V48	异佛尔酮	1 054/1 053	MS,RI	50.516±2.178	45.457±4.794	51.053±2.249	酮

续表 2

序号	化合物	实测/理论保留指数	定性方式	质量浓度/(μg/L)			类别
				茯砖茶	去“金花”纯茶	“金花”菌体	
V49	β-紫罗酮	1 484/1 487	MS,RI,STD	9.384±0.347	12.325±1.015	8.959±0.380	酮
V50	紫罗酮	1 276/—	MS	3.375±0.195	3.336±0.223	3.413±0.380	酮
V51	苯乙酮	1 061/1 064	MS,RI,STD	123.750±6.598	86.091±4.285	110.625±9.380	酮
V52	5-甲氧基-6,7-二甲基苯并呋喃	1 465/1 468	MS,RI	5.106±0.079	4.786±0.449	6.519±0.217	杂氧
V53	1,2,3-三甲氧基苯	1 313/1 316	MS,RI,STD	19.261±0.608	20.214±1.093	29.383±1.423	杂氧
V54	1,2-二甲氧基苯	1 146/1 149	MS,RI	54.677±4.436	45.690±1.091	58.864±2.961	杂氧
V55	棕榈酸甲酯	1 926/1 927	MS,RI	23.543±4.318	28.457±8.810	6.382±8.428	酯
V56	香叶酸甲酯	1 323/1 323	MS,RI,STD	2.698±0.049	2.110±0.069	3.241±0.199	酯
V57	水杨酸甲酯	1 191/1 190	MS,RI,STD	444.670±11.335	261.959±15.198	453.938±34.685	酯
V58	3,5-二甲基苯甲酸甲酯	1 309/—	MS	52.867±0.215	41.723±1.016	56.314±2.871	酯
V59	棕榈酸乙酯	1 992/1 996	MS,RI,STD	58.358±1.984	39.812±8.068	707.180±9.818	酯

注:MS 为质谱数据库对比定性,RI 为保留指数定性,STD 为标准品定性。



(a) 挥发性成分质量浓度(绝对含量)　(b) 挥发性成分质量分数(相对含量)

图 2　各类挥发性成分质量浓度(绝对含量)与质量分数相对含量

Fig. 2　Contents of various volatiles

2.3　茯砖茶特征香气呈香物质及其来源分析

前人研究认为 OAV>1 的挥发性成分对样品香气形成有贡献,OAV>10 的挥发性成分被认为是重要香气成分[18-19]。根据文献报道的挥发性成分的阈值和属性描述，计算各个差异挥发性成分的 OAV。结果表明（见表 3），共有 38 种挥发性成分可计算 OAV,茯砖茶中 16 种挥发性成分 OAV>1,是其特征香气形成的呈香挥发性物质,分别是苯甲醇、香叶醇、庚醛、1-辛烯-3-醇、芳樟醇、雪松醇、茶吡咯、(*E*,*E*)-2,4-辛二烯醛、(*E*,*E*)-2,4-庚二烯醛、β-环柠檬醛、己醛、*D*-柠檬烯、α-紫罗酮、β-紫罗酮、苯乙酮和水杨酸甲酯。其中,OAV>10 的化合物有 6 种,包括 OAV 最高的雪松醇,达 308.81±21.89;其次为芳樟醇（42.45±2.56）、己醛（36.58±0.69）、(*E*,*E*)-2,4-辛二烯醛(12.82±0.34)、茶吡咯(12.39±0.71)和水杨酸甲酯(11.12±0.28)。OAV>10 的化合物是茯砖茶特征香气形成的重要呈香挥发性物质。

表 3　挥发性成分 OAV 和香气描述

Table 3　OAV and aroma attributes of volatile compounds

序号	化合物	阈值/(μg/L) [a]	OAV			香气描述 [b]
			茯砖茶	去“金花”纯茶	“金花”菌体	
V01	苯甲醇	100	3.19±0.11	2.91±0.23	11.44±0.85	花香
V02	香叶醇	7.5	1.06±0.06	<1	1.74±0.05	花香
V03	庚醛	10	2.38±0.11	5.15±0.25	—	脂香、青草气

续表 3

序号	化合物	阈值/(μg/L) [a]	OAV			香气描述 [b]
			茯砖茶	去“金花”纯茶	“金花”菌体	
V06	1-辛烯-3-醇	2	1.08±0.06	<1	16.62±1.24	蘑菇香
V07	氧化芳樟醇 II	320	<1	<1	1.00±0.08	花香
V10	氧化芳樟醇 I	320	<1	<1	<1	花香
V11	苯乙醇	390	<1	<1	1.73±0.09	花香
V12	雪松醇	0.5	308.81±21.89	212.49±47.48	348.85±16.21	木香
V13	芳樟醇	3.8	42.45±2.56	28.63±3.30	48.73±4.72	花香
V14	α-松油醇	300	<1	<1	<1	花香
V16	茶吡咯	2	12.39±0.71	10.13±0.81	14.19±2.29	烘烤香
V18	二氢猕猴桃内酯	500	<1	1.07±0.05	<1	麝香
V19	苯甲醛	750.9	<1	<1	<1	杏仁香
V20	癸醛	9	—	—	<1	脂香
V22	(*E*)-2-壬烯醛	0.4	—	—	4.40±2.12	青草气
V23	(*E*,*E*)-2,4-辛二烯醛	10	12.82±0.34	18.08±1.74	5.06±1.32	青草气、脂香
V24	(*E*,*E*)-2,4-庚二烯醛	56	1.16±0.68	1.57±0.06	<1	青草气、脂香
V25	β-环柠檬醛	5	4.79±0.18	4.57±0.32	4.80±0.30	果香
V26	己醛	4.5	36.58±0.69	48.84±9.30	—	青草气
V28	1,1,6-三甲基-1,2-二氢萘	900	<1	<1	<1	青草气
V31	*D*-柠檬烯	1.21	7.63±0.39	8.06±0.31	7.16±0.17	果香
V33	1-甲基萘	0.02	<1	<1	<1	焦油味,辛辣味
V34	萘	50	<1	<1	<1	焦油味,辛辣味
V35	2-甲基萘	10	<1	<1	<1	焦油味,辛辣味
V37	2-庚酮	140	<1	<1	—	果香
V38	甲基庚烯酮	50	<1	<1	2.05±0.14	青草气、陈味
V39	2-十一烷酮	450	—	—	<1	果香
V42	对甲基苯乙酮	15.6	<1	<1	<1	果香
V43	α-紫罗酮	5.67	3.83±0.11	3.88±0.14	3.67±0.01	花香
V44	二氢-β-紫罗酮	31	<1	<1	<1	花香
V45	香叶基丙酮	60	<1	<1	<1	花香
V47	樟脑	460	<1	<1	<1	樟脑味
V48	异佛尔酮	200	<1	<1	<1	甜香
V49	β-紫罗酮	7	1.34±0.05	1.76±0.14	1.28±0.05	花香
V51	苯乙酮	65	1.90±0.10	1.32±0.07	1.70±0.14	花香
V55	棕榈酸甲酯	1 000	<1	<1	<1	脂香
V57	水杨酸甲酯	40	11.12±0.28	6.55±0.38	11.35±0.87	冬青油香、药香
V59	棕榈酸乙酯	2 000	<1	<1	<1	甜香

注:a. 挥发性成分阈值参考 Gemert L. J. Van. Compilations of odour threshold values in air,water and other media[M]. 2003.

b. 挥发性成分香气描述参考 FEMA GRAS database(http://www.femaflavor.org/).

为研究茯砖茶特征香气中呈香挥发性成分的来源,采用 PCA、HCA、PLS-DA、ANOVA 结合 OAV,研究茯砖茶、去“金花”纯茶和“金花”菌体中挥发性成分组成的差异及呈香挥发性成分的来源。PCA 和 HCA 分析表明(见图 3(a)(b)),茯砖茶、去“金花”纯茶和“金花”菌体可明显分为 3 组,表明 3 组样品间挥发性成分组成具有显著差异。基于 PCA 和 HCA 结果,构建了 PLS-DA 模型,拟合参数 R^2X=0.972、Q^2=0.984,置换检验模型 R^2=0.662、Q^2=-0.181,表明该判别模型有较好的解释能力,且不存在过拟

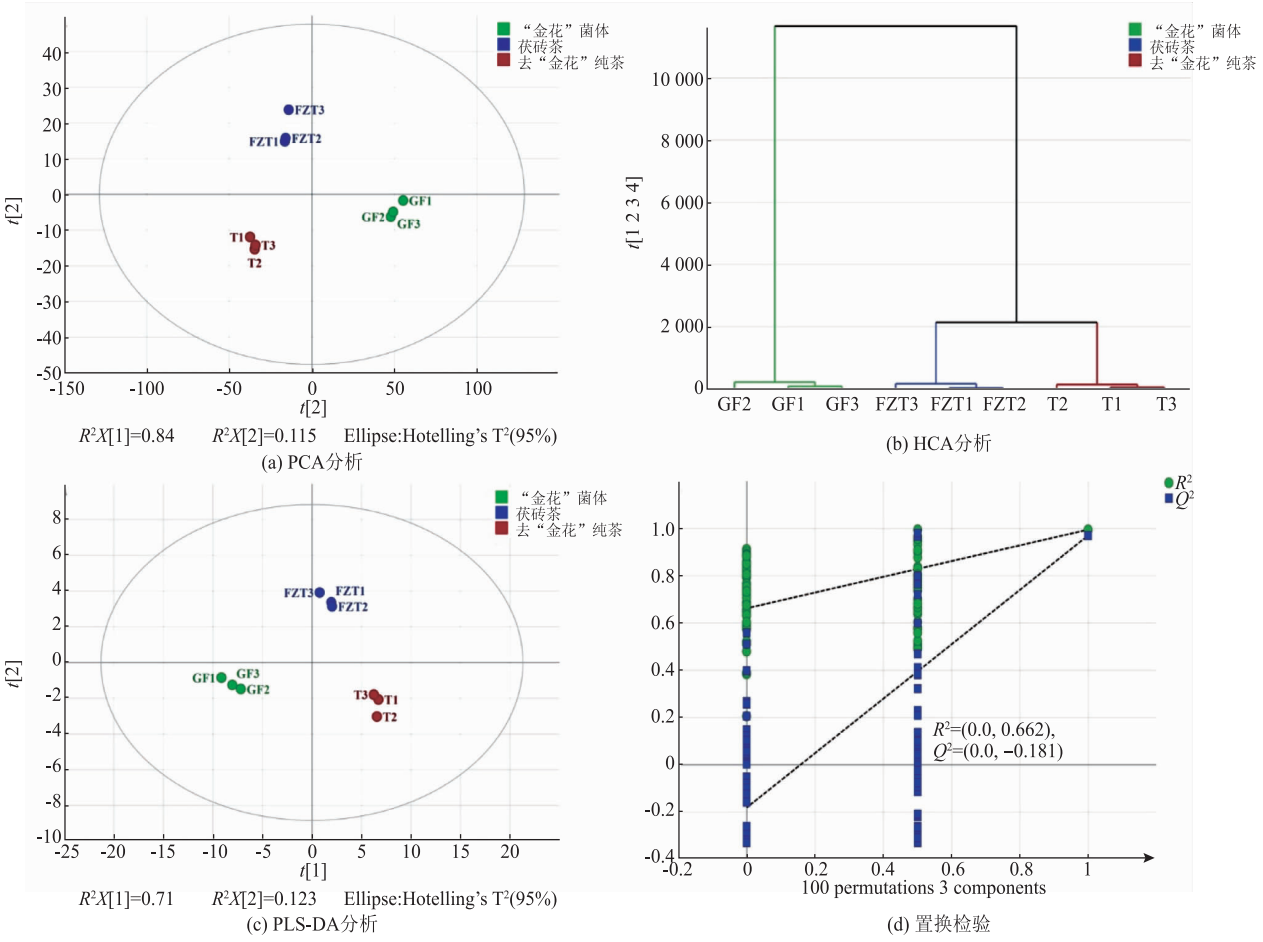


图 3　多元统计分析

Fig. 3　Multivariate statistical analysis

合现象(见图 3(c)(d))。

如图 4 所示，共筛选了 14 种差异挥发性成分(VIP>1 且 P<0.05)，其中 7 种差异挥发性成分属于茯砖茶呈香挥发性物质(OAV>1)，分别是苯甲醇、水杨酸甲酯、己醛、芳樟醇、雪松醇、(E,E)−2,4−辛二烯醛和 1−辛稀−3−醇。具有青草气属性的己醛和(E,E)−2,4−辛二烯醛在去“金花”纯茶中的含量显著高于其在“金花”菌体中的含量，且 OAV>10 属重要呈香物质，表明茯砖茶特征香气中的青草气属性主要由去“金花”纯茶贡献；而具有花香属性的苯甲醇和芳樟醇，具有木香属性的雪松醇，具有冬青香属性的水杨酸甲酯和具有蘑菇香属性的 1−辛烯−3−醇在“金花”菌体中的含量显著高于其在去“金花”纯茶中的含量，且 OAV>10 属重要呈香物质，表明茯砖茶特征香气中的花香属性、木香属性、冬青香属性和蘑菇香属性主要由“金花”菌体贡献。此外，茯砖茶呈香挥发性成分中具有花香属性的香叶醇、α−紫罗酮、β−紫罗酮和苯乙酮，具有青草气属性庚醛和(E,E)−2,4−庚二烯醛，具有果香属性的 β−环柠檬醛和 D−柠檬烯，具有烘烤香属性的茶吡咯对茯砖茶特征香气形成也有贡献，但其含量在“金花”纯茶和“金花”菌体中无显著性差异，可能起一定的协调作用。

3　结　语

茶叶香气是由众多特征香气组分按照一定比例相互作用形成的整体感官感受，其表现受香气组分种类、含量、阈值以及相互作用效应等多种因素的影响[20]。本研究中将具有典型“菌花香”的茯砖茶中的“金花”菌体去除后，剩余的去“金花”纯茶样品无“菌花香”。GC−MS 分析发现，茯砖茶、去“金花”纯茶和“金花”菌体挥发性成分组成相似，但各挥发性

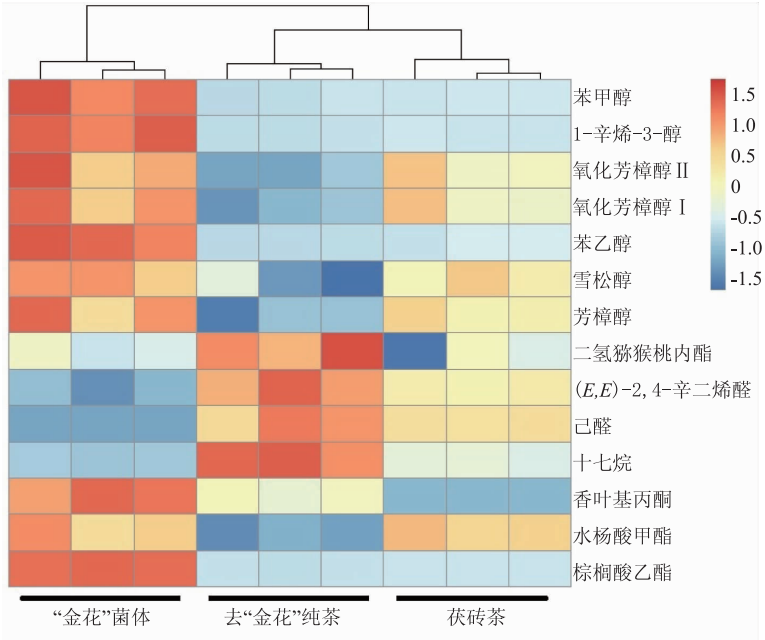


图 4　茯砖茶、去“金花”纯茶和“金花”菌体间差异挥发性成分热图

Fig. 4　Heatmap of the differential volatile compounds among Fu brick tea, tea base without ‘Golden flower’ and ‘Golden flower’

成分间含量差异较大，可能是因为茶叶本身吸附香气的属性导致其吸附了“金花”菌体中部分的挥发性成分，或去“金花”纯茶样品中还含有部分肉眼无法察觉的少量“金花”菌体造成。

茶叶中香气提取方法主要有同时蒸馏萃取法（Simultaneous distillation and solventextraction，SDE）、减压蒸馏萃取法（Vacuum distillation extraction，VDE）和固相微萃取法等。本研究中采用的是固相微萃取法，相比其他香气提取方法更能体现茶叶的固有香气，且无有机溶剂干扰，但其缺点是无法自动进样以及不同材质的萃取纤维对茶叶的吸附能力不一致，可能导致数据分析时香气组成比例失衡[21]。

前人研究推测，茯砖茶“菌花香”是在黑毛茶原有香型的基础上再添加花香、陈香和火功香等最终协调形成的“菌花香”[2,11]。本研究中基于 OAV 分析法，鉴定了 16 种茯砖茶呈香挥发性成分，主要以青草气属性、木香属性和花香属性物质为主，与其他学者研究结果相同[9,22]。进一步采用化学计量学方法筛选出 14 种差异挥发性成分，其中 7 种差异挥发性成分属于茯砖茶呈香物质且在去“金花”纯茶和“金花”菌体中含量差异显著，包括“金花”菌体中富含苯甲醇、芳樟醇、雪松醇、1-辛稀-3-醇和水杨酸甲酯，主要贡献了茯砖茶的花香、木香、蘑菇香和冬青香属性。花香属性的芳樟醇及其氧化产物、苯甲醇和冬青油香药香型的水杨酸甲酯被认为是茯砖茶“菌花香”的关键成分[9,23]，且芳樟醇及氧化芳樟醇的增加与茯砖茶、普洱茶发酵过程中真菌生长密切相关[7,24]。雪松醇是普洱茶或陈茶中木香和陈香的主要成分[25-26]，而蘑菇香型、脂香型的 1-辛烯-3-醇是微生物酶氧化裂解亚油酸的真菌次生代谢产物[27-28]，对茯茶特征香气的形成也具有重要贡献[29]。而去“金花”纯茶中富含己醛和(*E*,*E*)-2,4-辛二烯醛，主要贡献了“菌花香”的青草气属性。己醛和(*E*,*E*)-2,4-辛二烯醛是茶叶中常见的青草气成分，也是茯砖茶和普洱茶中青草气的主要来源[2,14]。茯砖茶其他成分作为茯砖茶的基质，也可通过间接和协同作用促进茶香味的形成[30]。此外，已鉴定的挥发性物质中有部分化合物由于阈值缺乏或未知，无法利用 OAV 法衡量其对茯砖茶特征香气的贡献，需进一步研究。总之，茯砖茶特征香气是在“金花”菌体和去“金花”纯茶中挥发性成分的共同作用下形成的，二者缺一不可。

参考文献:

[1] LI Q,HUANG J A,LI Y D,et al. Fungal community succession and major components change during manufacturing process of Fu brick tea[J]. **Scientific Reports**,2017,7(1):1-9.

[2] 王增盛,施兆鹏,刘仲华,等. 论茯砖茶品质风味形成机理[J]. 茶叶科学,1991,11(增刊):49-55.

[3] 彭晓赟,章卫民,刘淑云,等. 湖南地区茯砖茶中金花菌的分离鉴定[J]. 菌物研究,2011,9(3):157-161.

[4] ZHENG X Q,LI Q S,XIANG L P,et al. Recent advances in volatiles of teas[J]. **Molecules**,2016,21:338.

[5] ZENG L T,WATANABE N,YANG Z Y. Understanding the biosyntheses and stress response mechanisms of aroma compounds in tea(*Camellia sinensis*) to safely and effectively improve tea aroma[J]. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**,2019,59(14):2321-2334.

[6] SHI J,ZHU Y,ZHANG Y,et al. Volatile composition of Fu-brick tea and Pu-erh tea analyzed by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry[J]. **LWT–Food Science and Technology**,2019,103(5):27-33.

[7] XU X Q,MO H Z,YAN M C,et al. Analysis of characteristic aroma of fungal fermented Fuzhuan brick tea by gas chromatography/mass spectrophotometry[J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**,2007,87(8):1502-1504.

[8] 沈程文,邓岳朝,周跃斌,等. 湖南茯砖茶品质特征及其香气组分研究[J]. 茶叶科学,2017,37(1):38-48.

[9] 张亚,李卫芳,肖斌. 25 个湖南、陕西茯砖茶样品挥发性成分的 HS-SPME-GC-MS 分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2017,45(2):151-160.

[10] 颜鸿飞,王美玲,白秀芝,等. 湖南茯砖茶香气成分的 SPME-GC-TOF-MS 分析[J]. 食品科学,2014,35(22):176-180.

[11] 王华夫,李名君,刘仲华,等. 茯砖茶在发花过程中的香气变化[J]. 茶叶科学,1991,11(增刊):81-86.

[12] 全国茶叶标准化技术委员会. 茶叶感官审评方法:GB/T 23776-2018[S]. 北京:中国标准出版社,2018:1-28.

[13] XU Y Q,WANG C,LI C W,et al. Characterization of aroma-active compounds of Pu-erh tea by headspace solid-phase microextraction(HS-SPME) and simultaneous distillation-extraction(SDE) coupled with GC-olfactometry and GC-MS[J]. **Food Analytical Methods**,2015,9(5):1188-1198.

[14] DU L P,WANG C,LI J X,et al. Optimization of headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for detecting methoxyphenolic compounds in Pu-erh tea[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2013,61(3):561-568.

[15] XIAO Z B,WU Q Y,NIU Y W,et al. Characterization of the key aroma compounds in five varieties of mandarins by gas chromatography-olfactometry,odor activity values,aroma recombination,and omission analysis[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2017,65(38):8392-8401.

[16] WU Y W,PAN Q H,QU W J,et al. Comparison of volatile profiles of nine litchi(*Litchi chinensis* Sonn.) cultivars from southern China[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2009,57(20):9676-9681.

[17] MAO S H,LU C Q,LI M F,et al. Identification of key aromatic compounds in Congou black tea by partial least-square regression with variable importance of projection scores and gas chromatography-mass spectrometry/gas chromatography-olfactometry[J]. **Journal of the Science and Food Agriculture**,2018,98(14):5278-5286.

[18] 刘登勇. 确定食品关键风味化合物的一种新方法:"ROAV"法[J]. 食品科学,2008,29(7):370-374

[19] 张铭铭,尹洪旭,邓余良,等. 基于 HS-SPME/GC×GC-TOFMS/OAV 不同栗香特征绿茶关键香气组分分析[J]. 食品科学,2020,41(2):244-252.

[20] YANG Z Y,BALDERMANN S,WATANABE N. Recent studies of the volatile compounds in tea[J]. **Food Research International**,2013,53(2):585-599.

[21] 郭向阳,宛晓春.茶叶香气提取方法[J].食品安全质量检测学报,2019,10(15):4869-4876.

[22] NIE C N,ZHONG X X,HE L,et al. Comparison of different aroma-active compounds of Sichuan dark brick tea(*Camellia sinensis*) and Sichuan Fuzhuan brick tea using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and aroma descriptive profile tests[J]. **European Food Research and Technology**,2019,245(9):1963-1979.

[23] LYU S D,WU Y S,LI C W,et al. Comparative analysis of Pu-erh and Fuzhuan teas by fully automatic headspace solid-phase

microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry and chemometric methods[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**，2014，62(8)：1810-1818.

[24] XU X，YAN M，ZHU Y. Influence of fungal fermentation on the development of volatile compounds in the Puer tea manufacturing process[J]. **Engineering in Life Sciences**，2005，5(4)：382-386.

[25] LYU H P，ZHONG Q S，LIN Z，et al. Aroma characterisation of Pu-erh tea using headspace-solid phase microextraction combined with GC/MS and GC－olfactometry[J]. **Food Chemistry**，2012，130(4)：1074-1081.

[26] 王秋霜，陈栋. 广东陈香茶特征香气物质研究[J]. 广东农业科学，2012，39(21)：47-51.

[27] 薛景波. 黄酒接种生麦曲微生物群落结构及分离培养微生物的产酶、产香性质分析[D].无锡：江南大学，2016.

[28] MORAWICKI R，BEELMAN R. Study of the biosynthesis of 1-octen-3-ol using a crude homogenate of agaricus bisporus in a bioreactor[J]. **Journal of Food Science**，2008，73(3)：135-139.

[29] 何红霞，金莉莎. 茯茶“散茶发花”过程香气成分的变化[J]. 茶叶通讯，2012，39(1)：15-19.

[30] MARSILI R. Flavor，Fragrance，and Odor Analysis[M]. Los Angeles ：CRC Press，2002.

科　技　信　息

科学家利用废塑料制造出香草香料

近日，发表在 *Green Chemistry* 上的一项研究中，来自英国爱丁堡大学的研究人员利用基因工程改造的细菌将塑料瓶转化为香草香料。这是首次实现用废塑料制造出有价值的化学制品。

将塑料瓶升级改造为更有利用价值的材料可以使回收过程更具吸引力和有效性。目前，塑料在一次使用后就失去了95%的价值，更好地收集和利用这些废物是解决全球塑料污染问题的关键。研究人员已经开发出能够将用于饮料瓶的聚对苯二甲酸乙二酯(PET)聚合物分解成对苯二甲酸(TA)的突变酶，利用细菌将 TA 转化为香兰素。香兰素被广泛应用于食品和化妆品行业，是一种重要的大宗化学品，用于制造药品、清洁产品和除草剂。全球的香兰素需求正在增长，2018 年为 3.7 万吨，远远超过天然香草豆的供应。

该研究通讯作者、爱丁堡大学生物科学学院定量生物学和生物技术研究所的 Joanna sadler 博士说：“这是第一个利用生物系统将塑料废物循环成有价值的工业化学品的例子，它将对循环经济产生非常重要的影响。”该研究颠覆了塑料是一种带来污染问题的废物的观点，并证明了它可以作为一种新的碳资源的用途，可以用来制造高价值产品。

这项研究利用工程改造的大肠杆菌将 TA 转化为香兰素。研究人员将培养液加热到 37 ℃，持续 1 d，这与酿造啤酒的环境条件相同，它可以将 79%的 TA 转化为香兰素。接下来，研究人员将进一步调整细菌以进一步提高转化率。

论文链接：https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/gc/d1gc00931a#! divAbstract

[信息来源]中华人民共和国科学技术部.科学家利用废塑料制造出香草香料[EB/OL]. (2021-8-3). http://www.most.gov.cn/gnwkjdt/202108/t20210803_176189.html