西湖龙井茶 HS-SPME/GC-MS 香气指纹图谱研究

吕海鹏[1]，杨停[1,2]，朱荫[1]，张悦[1]，林智[1]
（1.农业部茶树生物学与资源利用重点实验室，中国农业科学院茶叶研究所，浙江杭州 310008）
（2.中国农业科学院研究生院，北京 100081）

摘要：西湖龙井茶产于浙江省杭州市西湖区，是我国传统的历史名茶之一，其香气品质优异，为众多消费者所青睐。采用顶空固相微萃取-气相色谱联用质谱法（HS-SPME/GC-MS）分析了 24 个西湖龙井茶的香气成分，建立了西湖龙井茶的气相色谱-质谱（GC-MS）指纹图谱。结果表明，本研究中西湖龙井茶香气的 HS-SPME 最佳萃取条件为采用 50/30 μm CAR-DVB-PDMS 的萃取头，在 60 ℃的水浴温度下萃取 30 min。所建立的西湖龙井茶香气成分的 GC-MS 指纹图谱中共鉴定出 24 个特征指纹峰，其峰面积占总峰面积的 76.20%。采用夹角余弦法和相关系数法对指纹图谱进行了分析，发现 24 个西湖龙井茶样品具有较好的相似性。聚类分析表明，不同等级的西湖龙井茶样品得到了较好的聚类。GC-MS 指纹图谱结合聚类分析法能够对西湖龙井茶的香气质量评价提供科学参考。

关键词：西湖龙井茶；香气；指纹图谱；聚类分析
文章篇号：1673-9078(2015)11-339-347 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.051

Analysis of Aroma Fingerprint of Xihu Longjing Tea Using HS-SPME/GC-MS

LV Hai-peng[1], YANG Ting[1,2], ZHU Yin[1], ZHANG Yue[1], LIN Zhi[1]
(1.Key Laboratory of Tea Biology and Resource Utilization of Ministry of Agriculture, Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008, China) (2.Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Xihu Longjing tea, one of the famous teas of China, has a long history and superior aroma quality, is and originally produced in Xihu district, Hangzhou city, Zhejiang Province. It is greatly favored by many consumers. The aroma components of 24 Xihu Longjing tea samples were investigated by solid phase micro-extraction gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME/GC-MS), and their GC-MS fingerprints were established. Optimal extraction for HS-SPME in this study was achieved with 50/30 μm CAR-DVB-PDMS fiber and extraction for 30 min with a water bath temperature of 60 ℃. In the GC-MS fingerprints established for the aroma components of Xihu Longjing tea, a total of 24 characteristic peaks were identified, and their peak areas accounted for 76.20% of the total peak area. The GC-MS fingerprints were analyzed by cosine and correlation coefficient methods, and a high similarity among different Xihu Longjing tea samples was observed. Cluster analysis demonstrated that Xihu Longjing tea samples with different grades could be grouped into one cluster. Thus, this method, which is based on GC-MS fingerprints combined with cluster analysis, can provide a scientific reference for aroma quality evaluation of Xihu Longjing tea.

Key words: Xihu Longjing tea; aroma; fingerprint; cluster analysis

西湖龙井茶是我国传统的历史名茶之一，产于浙江省杭州市西湖区，品质素以“色绿、香郁、味醇、形美”四绝著称于世。香气是评价茶叶品质优劣的最重要因子之一，茶叶香气的实质是不同芳香物质以不同浓度组合对人类嗅觉神经综合作用的结果[1]。西湖龙井茶的香气香高持久，为众多消费者所青睐，目前已在其香气组成和关键呈香成分的研究上取得了很大的研究进展。例如，采用顶空固相微萃取[2]或同时蒸馏萃取[3]与气相色谱-质谱联用技术检测分析了西湖龙井茶中的挥发性成分，初步查明了西湖龙井茶与其它区域龙井茶的香气差异[4]，并采用基于气质联用/气相色谱-嗅觉测定技术确定了部分西湖龙井茶的特征香气成分等[5]。

收稿日期：2015-04-13
基金项目：国家自然科学基金（31470694）；中国农业科学院创新工程（CAAS-ASTIP-2014-TRICAAS）
作者简介：吕海鹏（1980-），男，博士，副研究员，主要从事茶叶加工品质化学研究
通讯作者：林智（1965-），男，博士，研究员，主要从事茶叶加工品质化学研究

指纹图谱是目前国际上公认的控制中药或天然药物质量的最有效的手段之一，已广泛应用于中药研究领域。鉴于植物化学成分的复杂性，色谱指纹图谱作为一种综合的、可量化的色谱鉴定手段，在中药质量控制和鉴别中都起到了重要作用[6]。茶叶指纹图谱分析借鉴了中药指纹图谱的分析方法，将谱学分析法与化学计量学处理方法相结合，具有整体性、模糊性和可量化等特点，在茶叶感官审评、种类识别、品质鉴定、真伪判别和规程控制等方面都具有广阔的应用前景[7]。目前，已有印度不同区域红茶[8]、板栗香型绿茶[9]、白茶[10]和黑茶[11]等的化学指纹图谱的相关研究报道，在茶叶品质评价和区域判别中发挥了积极作用。此外，采用高效液相色谱法法建立的绿茶多元化学指纹图谱能够较好表征茶叶样本的品种属性，为茶产品原料品种的判别验证技术提供技术支撑[12]。

然而，西湖龙井茶作为我国名优绿茶的典型代表，国内外目前尚无其香气指纹图谱的研究报道。顶空-固相微萃取是一种无溶剂的样品处理技术，具有成本低、无需有机溶剂、所需样品量少、灵敏度高、重现性好、操作简单、方便快捷的特点，能较准确地反映样品的风味组成，并能方便地与气相色谱、液相色谱联用，已广泛用于挥发性以及香气成分的研究[13~15]。因此，本研究拟采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱技术（HS-SPME/GC-MS），借鉴中药指纹图谱的分析方法，尝试建立西湖龙井茶的香气成分指纹图谱，为西湖龙井茶的香气品质评价、产地判别、以及真伪鉴别等提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

1.1.1 实验材料

西湖龙井茶样品共计 39 个，所有样品均采购于杭州西湖茶区。根据茶叶感官审评方法（GB/T 23776-2009），经专业审评后选取有代表性样品 24 个，其中一级样品 10 个、二级样品 7 个、三级样品 7 个；样品具体信息详见表 1 所示。

1.1.2 仪器与设备

自制改良萃取瓶、手动 SPME 进样器、四种不同类型的萃取头（65 μm DVB/PDMS、75 μm CAR/PDMS、100 μm PDMS 以及 50/30 μm CAR-DVB-PDMS），美国 Supeclo 公司；安捷伦 DB-5MS（60 m×0.32 mm×0.25 μm）弹性石英毛细管柱；PL202-L-电子天平，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；150 mL 自制萃取瓶；HHS 型恒温水浴锅，上海精宏实验设备有限公司；TRACE GC 2000 型气相色谱仪；TRACE DSQ 气质联用仪，美国 Thermo Finigan 公司。

表 1 西湖龙井茶样品信息

Table 1 Information regarding Xihu Longjing tea samples

编号	类别	等级	生产日期
1	西湖龙井	一级	2014 年 4 月
2	西湖龙井	一级	2014 年 4 月
3	西湖龙井	一级	2014 年 4 月
4	西湖龙井	一级	2014 年 4 月
5	西湖龙井	一级	2014 年 4 月
6	西湖龙行	一级	2014 年 4 月
7	西湖龙井	一级	2014 年 4 月
8	西湖龙井	一级	2014 年 4 月
9	西湖龙井	一级	2014 年 4 月
10	西湖龙井	一级	2014 年 4 月
11	西湖龙井	二级	2014 年 4 月
12	西湖龙行	二级	2014 年 4 月
13	西湖龙井	二级	2014 年 4 月
14	西湖龙井	二级	2014 年 4 月
15	西湖龙井	二级	2014 年 4 月
16	西湖龙井	二级	2014 年 4 月
17	西湖龙井	二级	2014 年 4 月
18	西湖龙行	三级	2014 年 4 月
19	西湖龙井	三级	2014 年 4 月
20	西湖龙井	三级	2014 年 4 月
21	西湖龙井	三级	2014 年 4 月
22	西湖龙井	三级	2014 年 4 月
23	西湖龙井	三级	2014 年 4 月
24	西湖龙井	三级	2014 年 4 月

1.2 试验方法

1.2.1 HS-SPME/GC-MS 方法的建立

固定茶水比例（3 g：150 mL）、萃取温度（60 ℃）以及萃取时间（30 min），分析比较 65 μm DVB/PDMS、75 μm CAR/PDMS、100 μm PDMS 以及 50/30 μm CAR-DVB-PDMS 四种萃取头对西湖龙井茶香气的富集效果；而后以此继续分析比较不同萃取温度（40 ℃、50 ℃、60 ℃、70 ℃和 80 ℃）以及不同萃取时间（10 min、20 min、30 min、40 min 和 50 min）对西湖龙井茶香气的富集效果；在综合系统分析的基础上，确定最佳的萃取参数。

1.2.2 样品处理方法

本研究采用顶空固相微萃取法（HS-SPME 法）。准确称取样品 3.0 g，加入到 250 mL 萃取瓶中，加

入 150 mL 沸水冲泡，放入 60 ℃水浴锅平衡 5 min，后插入 50/30 μm CAR/DVB/PDMS 萃取头（实验前先将此萃取头在色谱仪 250 ℃进样口老化 30 min）的手动进样器在 60 ℃水浴条件下顶空萃取，萃取时间为 30 min，萃取结束后在气相色谱进样口解吸附 3 min。

1.3 GC-MS 分析条件

色谱条件：采用 HP-5MS 弹性石英毛细管柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm）；进样口温度为 250 ℃、ECD 检测器温度为 250 ℃；载气为高纯氦气，纯度>99.999%，流速 1.0 mL/min；柱温起始为 50 ℃，保持 5 min，以每分钟 3 ℃升至 180 ℃，保持 2 min，再以 10 ℃ /min 升至 250 ℃，保持 3 min。

质谱条件：EI 电离能量为 70 eV；质量扫描范围为 50~600 amu；离子源温度为 230 ℃；四极杆温度为 150 ℃；质谱传输线温度为 220 ℃。

1.4 数据处理

由 GC-MS 分析得到的质谱数据经计算机在 NIST98.L 标准谱库的检索，查对有关质谱资料，对基峰、质核比和相对丰度等方面进行分析，分别对各峰所代表的香气物质的化学结构和名称加以确认，其相对含量采用峰面积归一法分析，即以各香气组分的峰面积占总峰面积之比值表示组分相对含量。

采用 Origin 7.5 软件建立 GC-MS 指纹图谱；采用 SPSS 17.0 数据处理软件进行相似度分析，并将 24 个西湖龙井茶香气成分共有峰峰面积作为特征，采用离差平方和法，选用欧式距离为测度对样品进行聚类分析。

2 结果与讨论

2.1 HS-SPME 分析方法的建立

在 HS-SPME 分析过程中，根据西湖龙井茶的审评标准，固定茶水比为 1:50（即 3.0 g 茶叶用 150 mL 沸水冲泡）。图 1 为四种不同类型萃取头对可萃取得到的西湖龙井茶香气成分总量的影响，可见 CAR-DVB-PDMS 的萃取效果最佳，CAR/PDMS 和 DVB/PDMS 次之，而 PDMS 最差。究其原因，传统萃取头，例如 PDMS，对极性化合物的灵敏度比较低，而混合包被萃取头，例如 CAR-DVB-PDMS、DVB/PDMS 以及 CAR/PDMS 等，能增加萃取的吸附能力，是因为固定相里吸附和扩散的协同作用，产生了比传统萃取头更高的灵敏度[13]。

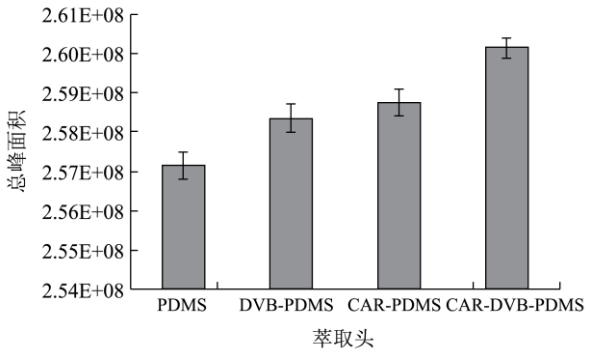


图 1 不同类型萃取头对挥发性成分总量的影响

Fig.1 Effect of different fibers on the total volatile constituent content

选用 50/30 μm CAR-DVB-PDMS 的萃取头，不同萃取水浴温度对西湖龙井茶香气成分总量的影响如图 2 所示，可知 60 ℃的水浴温度较佳，其效果明显优于 40 ℃和 50 ℃的水浴温度而与 70 ℃和 80 ℃的水浴温度接近。进而选用 50/30 μm CAR-DVB-PDMS 的萃取头和固定 60 ℃的水浴温度，不同萃取时间对可萃取得到的西湖龙井茶香气成分总量的影响如图 3 所示，表明 30 min 的萃取时间可以达到相对高的香气萃取量。因此，本研究选用的最佳 HS-SPME 分析方法为选用 50/30 μm CAR-DVB-PDMS 的萃取头，在 60 ℃的水浴温度下萃取 30 min。

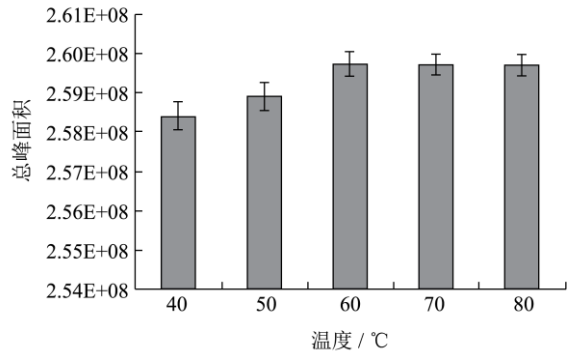


图 2 萃取水浴温度对挥发性成分总量的影响

Fig.2 Effect of temperature on the total volatile constituent content

采用本研究所优化的 HS-SPME/GC-MS 方法，对西湖龙井茶的香气成分进行分析，总离子流图如图 4 所示。可见，在此参数条件下，色谱峰数量较多，丰度较高，并均匀分布在 0~60 min 的时间段内，说明 HS-SPME/GC-MS 参数条件较为合适，进而在此基础上进行了方法学考察。为考察本方法的重复性，选取其中的 1 个西湖龙井茶样品，采用本研究中的 GC-MS 条件，进行 6 次试验重复，以 β-芳樟醇的色谱峰为参照峰，计算其它共有峰的相对保留时

间和相对峰面积，测得各共有峰相对保留时间的相对标准偏差 RSD 均≤0.98%，各色谱峰相对峰面积的相对标准偏差 RSD 均≤5.12%，说明所建立的实验方法具有较好的重复性。

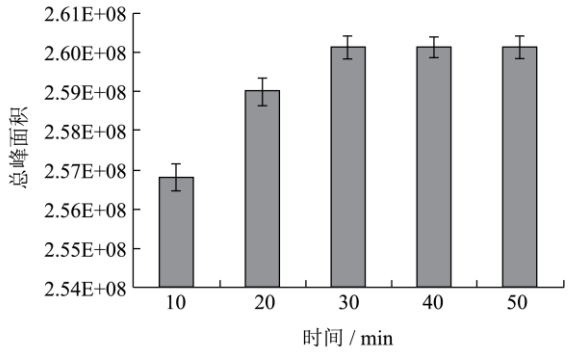


图 3 萃取时间对挥发性成分总量的影响

Fig.3 Effect of extraction time on the total volatile constituent content

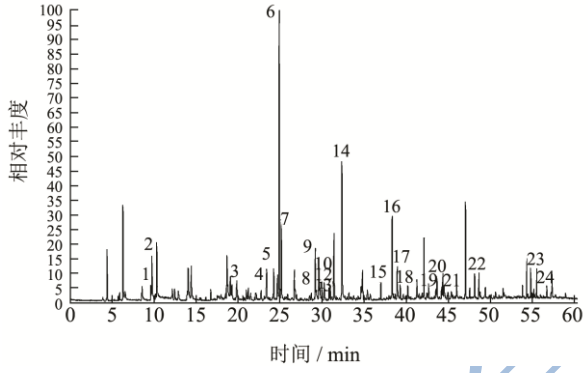


图 4 西湖龙井茶香气成分 GC-MS 总离子图

Fig. 4 GC-MS total ion chromatogram of aroma components in Xihu Longjing tea

2.2 数字化多元化学指纹图谱的建立及共有峰的确认

对 24 个西湖龙井茶样品进行 GC-MS 分析，共鉴定出 43 种香气成分。根据西湖龙井茶香气成分 GC-MS 总离子图所给出的峰数、峰保留时间和峰面积值等相关参数以及香气成分鉴定结果，进行综合分析比较，从中筛选出 24 个共有峰作为指纹图谱的特征峰，建立共有峰指纹图谱，如图 4 所示。这 24 个共有峰依次为 3-己烯-2-酮、正己醛、辛醛、芳樟醇氧化物Ⅰ、芳樟醇氧化物Ⅱ、*β*-芳樟醇、壬醛、芳樟醇氧化物Ⅲ、反-丁酸-3-己烯酯、水杨酸甲酯、癸醛、二甲基戊酸甲酯、*β*-环柠檬醛、橙花醇、*α*-荜澄茄油烯、顺-己酸-3-己烯酯、顺-茉莉酮、十四烷、*β*-紫罗酮、*δ*-杜松烯、顺-橙花叔醇、*α*-雪松醇、邻苯二甲酸二丁酯和 2-甲基十五酸甲酯。其中的一些香气成分已被证实为西湖龙井茶的特征香气成分，例如 β-芳樟醇和顺-茉莉酮等[5]。

分别计算 24 个西湖龙井茶样品中这 24 个共有峰面积之和占总峰面积的百分比，发现其值介于 70.47%~81.10%之间，依次为 78.64%、74.23%、73.25%、74.29%、78.96%、76.46%、72.19%、77.09%、78.86%、75.60%、79.60%、78.81 %、77.63%、79.46%、79.72%、73.29%、70.79%、70.47%、70.81%、75.03%、78.00%、74.59%、81.10%、78.43%和 77.80%，平均值为 76.20%。

表 2 各共有峰的相对保留面积

Table 2 Relative area for common peaks

共有峰	样品各峰相对保留面积												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	0.0641	0.0735	0.0560	0.0455	0.0860	0.0366	0.0212	0.0344	0.0096	0.0170	0.0187	0.0158	0.0259
2	0.4897	0.3226	0.3571	0.2836	0.4600	0.1056	0.0967	0.0828	0.0733	0.0597	0.3890	0.2839	0.4166
3	0.0758	0.0754	0.0564	0.0318	0.0352	0.0608	0.0561	0.0574	0.0642	0.0796	0.1638	0.0979	0.0907
4	0.0294	0.1054	0.0358	0.0616	0.0391	0.0894	0.0635	0.0721	0.0538	0.0715	0.0231	0.0235	0.0543
5	0.1195	0.0977	0.0817	0.0842	0.0709	0.0722	0.0841	0.0661	0.0504	0.0698	0.1141	0.1111	0.1108
6	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
7	0.5211	0.5739	0.5302	0.5343	0.5038	0.3876	0.3068	0.4307	0.3126	0.4743	0.6415	0.4174	0.3801
8	0.0507	0.0265	0.0305	0.0364	0.0228	0.0224	0.0415	0.0214	0.0210	0.0217	0.0489	0.0351	0.0233
9	0.1771	0.2454	0.2463	0.2564	0.1943	0.1427	0.0681	0.0975	0.0586	0.1083	0.1788	0.1629	0.1346
10	0.1928	0.1005	0.1086	0.1081	0.1195	0.1122	0.2072	0.0970	0.0962	0.1440	0.1956	0.1714	0.1578
11	0.2272	0.2342	0.1636	0.2091	0.1767	0.1222	0.0768	0.2218	0.1365	0.1877	0.6847	0.2782	0.1837
12	0.0960	0.0799	0.0753	0.0943	0.0457	0.0774	0.0553	0.0275	0.0197	0.0665	0.0700	0.0657	0.0575

转下页

接上页

13	0.0822	0.0898	0.0922	0.0872	0.0747	0.0656	0.0598	0.0377	0.0387	0.0422	0.1228	0.0756	0.1022
14	0.6632	0.6265	0.6254	0.6424	0.5196	0.7241	0.7567	0.7302	0.4993	0.8099	0.9378	0.7482	0.8045
15	0.1470	0.1403	0.1089	0.1267	0.1139	0.0845	0.0656	0.0797	0.0548	0.0595	0.0555	0.0481	0.0341
16	0.3200	0.3973	0.3924	0.4748	0.3249	0.2954	0.1902	0.1893	0.1456	0.2547	0.4455	0.3954	0.3390
17	0.1471	0.1604	0.1290	0.1338	0.1191	0.3157	0.2781	0.2683	0.1925	0.2902	0.3284	0.2819	0.2237
18	0.0532	0.0588	0.0586	0.0674	0.0450	0.1065	0.0706	0.0735	0.0573	0.0640	0.0848	0.0507	0.0497
19	0.1478	0.1591	0.1438	0.1531	0.1349	0.1384	0.0920	0.0989	0.0725	0.0761	0.2136	0.1043	0.0807
20	0.1309	0.1585	0.1329	0.1767	0.1170	0.1291	0.0924	0.1142	0.0680	0.0801	0.0429	0.0430	0.1368
21	0.0434	0.0330	0.0219	0.0301	0.0212	0.1220	0.0791	0.0723	0.0433	0.0662	0.0439	0.0487	0.0173
22	0.3333	0.3806	0.2617	0.2991	0.5655	0.2061	0.1063	0.1803	0.0755	0.1403	0.0281	0.0792	0.0605
23	0.1284	0.1439	0.0797	0.0781	0.1378	0.1839	0.1109	0.1167	0.0830	0.1235	0.1267	0.0625	0.0391
24	0.0918	0.0867	0.0609	0.0677	0.1354	0.0993	0.0632	0.0704	0.0614	0.0815	0.1222	0.0474	0.0717

共有峰	样品各峰相对保留面积												
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	平均值	偏差
1	0.0279	0.0173	0.0506	0.0475	0.0484	0.0497	0.0381	0.0591	0.0577	0.0173	0.0406	0.0399	0.0202
2	0.3223	0.2842	0.8480	0.3755	0.4155	0.4837	0.4257	0.3426	0.1460	0.1246	0.1209	0.3046	0.1842
3	0.0635	0.0569	0.1348	0.0562	0.0830	0.1220	0.1408	0.0391	0.0318	0.0399	0.0298	0.0726	0.0366
4	0.0166	0.0130	0.0484	0.0472	0.0379	0.0612	0.0390	0.1027	0.0452	0.0473	0.0537	0.0514	0.0244
5	0.1169	0.1165	0.1722	0.1519	0.1698	0.1589	0.1781	0.0798	0.0926	0.0747	0.0876	0.1055	0.0369
6	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.0000
7	0.3569	0.3729	0.7034	0.6129	0.7076	0.7834	0.6457	0.2945	0.2669	0.3008	0.2752	0.4723	0.1537
8	0.0291	0.0280	0.0612	0.0712	0.0635	0.0471	0.0551	0.0432	0.0328	0.0317	0.0334	0.0374	0.0147
9	0.1735	0.1514	0.2773	0.3169	0.3578	0.4249	0.2909	0.1808	0.1776	0.1571	0.2096	0.1995	0.0892
10	0.1594	0.1957	0.0973	0.1293	0.1092	0.1314	0.1572	0.1657	0.1329	0.2251	0.1844	0.1458	0.0396
11	0.1132	0.1410	0.3729	0.2475	0.2357	0.3246	0.2972	0.1104	0.0746	0.0858	0.0897	0.2081	0.1299
12	0.0480	0.0698	0.1311	0.1111	0.0968	0.0886	0.0556	0.0593	0.0436	0.0427	0.0467	0.0677	0.0263
13	0.0764	0.0997	0.1560	0.0521	0.0975	0.0914	0.0716	0.0723	0.0401	0.0414	0.0336	0.0751	0.0298
14	0.7663	0.6968	1.0816	0.9998	0.9642	1.0297	0.9722	0.6922	0.5870	0.6915	0.6446	0.7589	0.1615
15	0.0395	0.0376	0.0944	0.0741	0.0988	0.1009	0.0954	0.0882	0.0695	0.1006	0.0999	0.0841	0.0314
16	0.4492	0.3504	0.5557	0.4755	0.8144	0.8018	0.5319	0.3590	0.2824	0.3575	0.3716	0.3964	0.1631
17	0.2768	0.2579	0.1926	0.1817	0.1954	0.2456	0.1910	0.1085	0.1183	0.1290	0.1613	0.2053	0.0689
18	0.0427	0.0624	0.0557	0.0341	0.0424	0.0540	0.0275	0.0652	0.0483	0.0535	0.0694	0.0581	0.0165
19	0.1482	0.1680	0.2530	0.1129	0.1406	0.1480	0.1147	0.1095	0.0479	0.0755	0.0613	0.1248	0.0479
20	0.0443	0.0405	0.0713	0.0763	0.0831	0.0813	0.0631	0.0819	0.0745	0.1014	0.1042	0.0935	0.0373
21	0.0403	0.0548	0.0392	0.0368	0.0439	0.0393	0.0254	0.0693	0.0473	0.0689	0.0688	0.0490	0.0233
22	0.0715	0.1107	0.1487	0.1881	0.0783	0.0641	0.0707	0.0628	0.0904	0.0841	0.0911	0.1574	0.1284
23	0.0454	0.0834	0.1031	0.1865	0.1019	0.1086	0.0808	0.0658	0.0721	0.0963	0.0782	0.1015	0.0377
24	0.0795	0.1322	0.0837	0.1079	0.0773	0.1108	0.0660	0.0269	0.0321	0.0486	0.0317	0.0773	0.0300

此外，比较这 24 个共有峰，发现保留时间为 24.88 min 的 *β*-芳樟醇的峰面积最大且相对稳定，且位于图谱较为中心的位置，故选作参照峰，并在此基础上计算其它所有共有色谱峰的相对保留值。将 β -芳樟醇的保留时间和相对峰面积都定为 1，其它各共有峰的相对保留面积和相对峰时间分别如表 2 和表 3 所示。可见，特征峰的相对保留时间 RSD 都小于 2%，说明它们在 GC-MS 色谱图中具有相对稳定性。

表 3 各共有峰的相对保留时间

Table 3 Relative retention time for common peaks

共有峰	样品各峰相对保留时间												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	0.3865	0.3863	0.3867	0.3867	0.3863	0.3867	0.3871	0.3863	0.3863	0.3857	0.3855	0.3867	0.3870
2	0.3913	0.3916	0.3915	0.3915	0.3915	0.3915	0.3919	0.3915	0.3919	0.3905	0.3912	0.3920	0.3922
3	0.7951	0.7952	0.7954	0.7954	0.7954	0.7954	0.7954	0.7950	0.7954	0.7951	0.7948	0.7952	0.7953
4	0.9401	0.9406	0.9405	0.9405	0.9409	0.9405	0.9417	0.9401	0.9401	0.9409	0.9402	0.9410	0.9406
5	0.9739	0.9743	0.9735	0.9735	0.9743	0.9739	0.9747	0.9739	0.9739	0.9739	0.9739	0.9743	0.9739
6	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
7	1.0100	1.0100	1.0105	1.0105	1.0105	1.0105	1.0105	1.0096	1.0105	1.0100	1.0096	1.0100	1.0100
8	1.1539	1.1542	1.1539	1.1539	1.1539	1.1539	1.1539	1.1539	1.1539	1.1543	1.1538	1.1538	1.1534
9	1.1732	1.1727	1.1736	1.1736	1.1736	1.1736	1.1740	1.1736	1.1732	1.1732	1.1727	1.1731	1.1730
10	1.1904	1.1896	1.1909	1.1909	1.1909	1.1909	1.1909	1.1909	1.1905	1.1900	1.1904	1.1908	1.1903
11	1.2157	1.2153	1.2162	1.2162	1.2162	1.2162	1.2166	1.2158	1.2158	1.2157	1.2157	1.2157	1.2156
12	1.2391	1.2390	1.2391	1.2391	1.2395	1.2391	1.2395	1.2395	1.2391	1.2395	1.2390	1.2394	1.2393
131	1.2439	1.2438	1.2444	1.2444	1.2444	1.2444	1.2448	1.2444	1.2440	1.2439	1.2438	1.2442	1.2437
4	1.2997	1.2996	1.3002	1.3002	1.3006	1.3002	1.3006	1.2998	1.3002	1.2997	1.3000	1.3000	1.2999
15	1.4873	1.4867	1.4879	1.4879	1.4879	1.4879	1.4875	1.4879	1.4879	1.4869	1.4871	1.4871	1.4866
16	1.5400	1.5394	1.5410	1.5410	1.5410	1.5410	1.5410	1.5406	1.5406	1.5400	1.5398	1.5398	1.5395
17	1.5653	1.5647	1.5659	1.5659	1.5663	1.5659	1.5659	1.5659	1.5659	1.5653	1.5655	1.5651	1.5648
18	1.5789	1.5775	1.5788	1.5788	1.5792	1.5788	1.5784	1.5784	1.5784	1.5781	1.5779	1.5783	1.5773
19	1.7139	1.7137	1.7150	1.7150	1.7146	1.7150	1.7142	1.7146	1.7142	1.7143	1.7141	1.7137	1.6925
20	1.7826	1.7823	1.7838	1.7838	1.7838	1.7838	1.7834	1.7834	1.7830	1.7826	1.7827	1.7827	1.7760
21	1.8477	1.8470	1.8481	1.8481	1.8489	1.8481	1.8485	1.8485	1.8485	1.8481	1.8478	1.8478	1.7872
22	1.9349	1.9341	1.9357	1.9357	1.9357	1.9357	1.9353	1.9353	1.9353	1.9345	1.9345	1.9341	1.9346
23	2.2314	2.2301	2.2319	2.2319	2.2323	2.2319	2.2319	2.2319	2.2319	2.2310	2.2305	2.2309	2.2300
24	2.2792	2.2783	2.2797	2.2797	2.2801	2.2797	2.2797	2.2801	2.2801	2.2788	2.2787	2.2783	2.2774

共有峰	样品各峰相对保留时间											平均值	偏差
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
1	0.3861	0.3870	0.3863	0.3867	0.3867	0.3869	0.3867	0.3857	0.3861	0.3859	0.3857	0.3864	0.0005
2	0.3913	0.3918	0.3916	0.3916	0.3920	0.3917	0.3916	0.3909	0.3913	0.3907	0.3913	0.3915	0.0004
3	0.7951	0.7957	0.7952	0.7952	0.7952	0.7955	0.7952	0.7951	0.7951	0.7950	0.7951	0.7952	0.0002
4	0.9401	0.9406	0.9402	0.9410	0.9410	0.9409	0.9406	0.9401	0.9405	0.9405	0.9405	0.9406	0.0004
5	0.9739	0.9743	0.9739	0.9743	0.9743	0.9739	0.9739	0.9739	0.9739	0.9739	0.9739	0.9740	0.0003
6	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.0000
7	1.0100	1.0100	1.0100	1.0100	1.0104	1.0100	1.0100	1.0100	1.0100	1.0105	1.0104	1.0102	0.0003
8	1.1539	1.1534	1.1534	1.1538	1.1542	1.1539	1.1534	1.1539	1.1535	1.1539	1.1531	1.1538	0.0003
9	1.1732	1.1726	1.1731	1.1727	1.1731	1.1732	1.1731	1.1728	1.1728	1.1732	1.1728	1.1732	0.0004
10	1.1908	1.1903	1.1900	1.1908	1.1904	1.1908	1.1908	1.1892	1.1896	1.1905	1.1900	1.1904	0.0005
11	1.2157	1.2152	1.2157	1.2157	1.2157	1.2157	1.2157	1.2153	1.2153	1.2158	1.2153	1.2158	0.0004
12	1.2399	1.2389	1.2390	1.2394	1.2394	1.2399	1.2390	1.2395	1.2391	1.2391	1.2391	1.2393	0.0003
13	1.2443	1.2437	1.2438	1.2438	1.2438	1.2443	1.2438	1.2439	1.2443	1.2440	1.2439	1.2440	0.0003

转下页

接上页

14	1.3001	1.2995	1.3000	1.3000	1.3000	1.3005	1.3000	1.2997	1.2997	1.3002	1.2997	1.3000	0.0003
15	1.4873	1.4862	1.4876	1.4871	1.4871	1.4877	1.4867	1.4869	1.4869	1.4875	1.4869	1.4873	0.0005
16	1.5404	1.5391	1.5402	1.5398	1.5398	1.5404	1.5398	1.5400	1.5396	1.5402	1.5400	1.5401	0.0006
17	1.5657	1.5644	1.5651	1.5655	1.5655	1.5657	1.5651	1.5657	1.5653	1.5659	1.5653	1.5655	0.0005
18	1.5785	1.5777	1.5787	1.5779	1.5779	1.5785	1.5779	1.5777	1.5777	1.5792	1.5781	1.5783	0.0005
19	1.7143	1.7134	1.7141	1.7141	1.7141	1.7143	1.7137	1.7139	1.7135	1.7142	1.7135	1.7133	0.0044
20	1.7834	1.7812	1.7831	1.7827	1.7827	1.7834	1.7823	1.7826	1.7826	1.7830	1.7822	1.7826	0.0015
21	1.8485	1.8483	1.8474	1.8474	1.8478	1.8489	1.8478	1.8481	1.8477	1.8485	1.8477	1.8455	0.0124
22	1.9349	1.9358	1.9345	1.9345	1.9345	1.9357	1.9341	1.9345	1.9345	1.9353	1.9345	1.9349	0.0006
23	2.2314	2.2292	2.2305	2.2309	2.2301	2.2314	2.2301	2.2314	2.2310	2.2319	2.2310	2.2311	0.0008
24	2.2792	2.2774	2.2783	2.2783	2.2783	2.2792	2.2787	2.2792	2.2792	2.2797	2.2788	2.2790	0.0008

2.3 西湖龙井茶挥发性成分化学指纹图谱的分析

表 4 西湖龙井茶的香气数字化特征指纹图谱

Table 4 Digital aroma fingerprint chromatogram of Xihu Longjing tea

编号	特征峰（GC-MS）	保留时间/min	相对保留时间	偏差	平均相对峰面积	偏差
1	3-己烯-2-酮	9.62	0.3864	0.0005	0.0399	0.0202
2	正己醛	9.74	0.3915	0.0004	0.3046	0.1842
3	辛醛	19.79	0.7952	0.0002	0.0726	0.0366
4	芳樟醇氧化物 I	23.40	0.9406	0.0004	0.0514	0.0244
5	芳樟醇氧化物 II	24.22	0.9740	0.0003	0.1055	0.0369
6	β-芳樟醇	24.88	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000
7	壬醛	25.14	1.0102	0.0003	0.4723	0.1537
8	芳樟醇氧化物III	28.71	1.1538	0.0003	0.0374	0.0147
9	反-丁酸-3-己烯酯	29.20	1.1732	0.0004	0.1995	0.0892
10	水杨酸甲酯	29.63	1.1904	0.0005	0.1458	0.0396
11	癸醛	30.26	1.2158	0.0004	0.2081	0.1299
12	二甲基戊酸甲酯	30.83	1.2393	0.0003	0.0677	0.0263
13	β-环柠檬醛	30.96	1.2440	0.0003	0.0751	0.0298
14	橙花醇	32.35	1.3000	0.0003	0.7589	0.1615
15	α-苹澄茄油烯	37.02	1.4873	0.0005	0.0841	0.0314
16	顺-己酸-3-己烯酯	38.34	1.5401	0.0006	0.3964	0.1631
17	顺-茉莉酮	38.96	1.5655	0.0005	0.2053	0.0689
18	十四烷	39.28	1.5783	0.0005	0.0581	0.0165
19	β-紫罗酮	42.67	1.7133	0.0044	0.1248	0.0479
20	δ-杜松烯	44.38	1.7826	0.0015	0.0935	0.0373
21	顺-橙花叔醇	45.98	1.8455	0.0124	0.0490	0.0233
22	α-雪松醇	48.16	1.9349	0.0006	0.1574	0.1284
23	邻苯二甲酸二丁酯	55.53	2.2311	0.0008	0.1015	0.0377
24	2-甲基十五酸甲酯	56.72	2.2790	0.0008	0.0773	0.0300

注：β-芳樟醇作为参考峰。

在以上分析基础上，所建立的西湖龙井茶香气成分的数字化特征指纹图谱如表 4 所示。可见，西湖龙井茶香气成分的指纹图谱峰主要集中在 α 值为 0.3864~2.2790 之间；其中醇类、醛类和酯类化合物成分，如正己醛、β-芳樟醇、壬醛、反-丁酸-3-己烯酯、癸醛、橙花醇、顺-己酸-3-己烯酯、顺-茉莉酮等相对

含量较高，相对峰面积 Sr 较大；这些大量的醇类、醛类和酯类化合物成分，具有明显的香气呈香特性[16]，从而构成了西湖龙井茶香气成分的重要特色。

2.4 指纹图谱的相似度分析

采用夹角余弦法和相关系数法进行了西湖龙井茶香气 GC-MS 指纹图谱的相似度分析。对 24 个西湖龙井茶样品的 GC-MS 色谱图进行分析，利用 24 个特征峰的相对峰面积进行相似度计算，结果如表 5 所示。从表 5 中可以看出，24 个西湖龙井茶样本的 24 个特征峰相似度的相关系数在 0.8947~0.9893 之间，夹角余弦的相关系数在 0.9410~0.9932 之间，说明 4 个西湖龙井茶样品的相似度很高，符合植物图谱相似度的要求，可以用来建立西湖龙井茶 GC-MS 指纹图谱。

表 5 指纹图谱的相似度分析

Table 5 Similarity analysis of the fingerprint chromatogram

样品编号	夹角余弦	相关系数
1	0.9797	0.9652
2	0.9792	0.9649
3	0.9887	0.9800
4	0.9855	0.9746
5	0.9410	0.8947
6	0.9774	0.9601
7	0.9652	0.9479
8	0.9745	0.9604
9	0.9548	0.9426
10	0.9746	0.9648
11	0.9565	0.9225
12	0.9932	0.9893
13	0.9882	0.9820
14	0.9893	0.9844
15	0.9913	0.9853
16	0.9556	0.9209
17	0.9886	0.9799
18	0.9694	0.9467
19	0.9663	0.9403
20	0.9856	0.9751
21	0.9850	0.9763
22	0.9751	0.9681
23	0.9787	0.9701
24	0.9776	0.9668

采用 Origin7.5 软件，对 24 个西湖龙井茶的离子色谱图原始数据进行分析，建立了西湖龙井茶香气成分的 GC-MS 指纹图谱（图 5）。

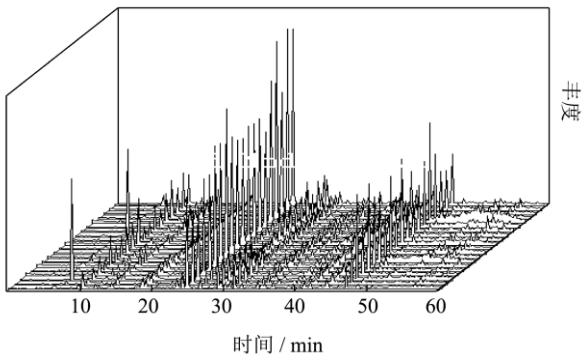


图 5 西湖龙井茶 GC-MS 香气指纹图谱

Fig.5 Aroma fingerprint chromatogram of Xihu Longjing tea

2.5 聚类分析

将 24 个西湖龙井茶香气成分中的 24 个共有峰峰面积作为特征，采用离差平方和法，选用欧式距离为测度对样品进行聚类分析。图 6 为样品的系统聚类分析图，横坐标为临界值即为类间的距离，纵坐标为样品编号。可见，

当临界值大于 10 时，24 个西湖龙井茶可以分为两类，第一类包括 1~10 共计 10 个样品（均为等级为一级的样品），第二类包括 11~24 共计 14 个样品（均为等级为二级和三级的样品）。进一步细分，第一类中 1~6 共计 6 个样品相近，7~10 共计 4 个样品相近；而第二类中 11~17 共计 7 个样品相近（均为等级为二级的样品），18~24 共计 7 个样品相近（均为等级为三级的样品）。由此可见，采用聚类分析可将不同等级的西湖龙井茶样品得以较好的聚类。

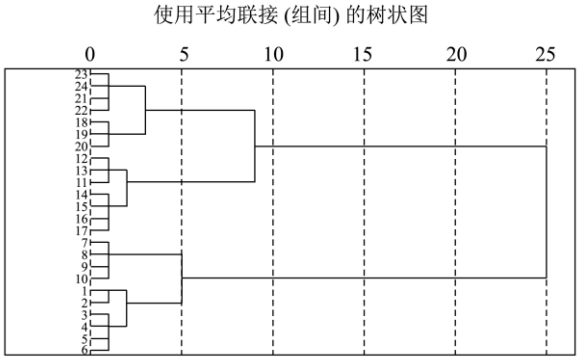


图 6 西湖龙井茶香气成分的系统聚类分析树状图

Fig.6 Dendrogram of the cluster analysis for aroma components of Xihu Longjing tea samples

3 结论

3.1 优化了西湖龙井茶香气的 HS-SPME 的萃取条件，发现采用 50/30 μm CAR-DVB-PDMS 的萃取头，在 60 ℃的水浴温度下萃取 30 min 的条件下香气富

集效果最好。

3.2 采用 GC-MS 从西湖龙井茶中鉴定出 43 种主要香气成分，选用 24 个特征指纹峰（其峰面积占总峰面积的 76.20%），建立了西湖龙井茶的香气成分的 GC-MS 指纹图谱；并采用夹角余弦法和相关系数法对指纹图谱进行了分析，发现 24 个西湖龙井茶样品具有较好的相似性。

3.3 聚类分析表明，不同等级的西湖龙井茶样品得到了较好的聚类。GC-MS 指纹图谱结合聚类分析法可为西湖龙井茶的等级判别提供科学参考。

3.4 本文所建立的指纹图谱是西湖龙井茶所特有的，它标示了西湖龙井茶中这些共有香气成分在组成比例关系等方面的共性特点。

参考文献

[1] 宛晓春.茶叶生物化学[M].北京:中国农业出版社,2003
WAN Xiao-chun. Tea biochemistry [M]. Beijing, China Agriculture Press, 2003

[2] 龙立梅,宋沙沙,李柰,等.3 种名优绿茶特征香气成分的比较及种类判别分析[J],食品科学,2015,36(2):114-119
LONG Li-mei, SONG Sha-sha, LI Nai, et al. Comparisons of characteristic aroma components and cultivar discriminant analysis of three varieties of famous green tea [J]. Food Science, 2015, 36(2): 114-119

[3] 孙彦,陈倩,郭雯飞.龙井茶的香气成分分析与比较[J].浙江大学学报(理学版),2013,40(2):186-190
SUN Yan, CHEN Qian, GUO Wen-fei. Analyusis of the aromatic compositions in longjing teas [J]. Jornal of Zhejiang University (Science Edition), 2013, 40(2): 186-190

[4] 张新亭,王梦馨,韩宝瑜.3 个不同地域龙井茶香气组成异同的解析[J].茶叶科学,2014, 34(4):344-354
ZHANG Xin-ting, WANG Meng-xin, HAN Bao-yu. Analysis on similarities and differences of aromatic composition in longjing teas from three producing regions [J]. Journal of Tea Science, 2014, 34(4): 344-354

[5] 汪厚银,李志,张剑,等.基于气质联用/气相色谱-嗅觉测定技术的西湖龙井茶特征香气成分分析[J].食品科学，2012, 33(8):248-251
WANG Hou-Yin, LI Zhi, ZHANG Jian, et al. Determination of characteristic aromatic components in xihu longjing tea by GC-MS and GC-Olfactometry [J]. Food Science, 2012, 33(8): 248-251

[6] 李小亭,李瑞盈,相海恩,等.基于 HPLC 指纹图谱及聚类分析对不同产地枸杞质量评价研究[J].现代食品科技,2012,28(9):1251-1253
LI Xiao-ting, LI Rui-ying, XIANG Hai-en, et al. Study on quality evaluation of *Lycium chinense* from different areas by HPLC fingerprint and cluster analysiss [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(9): 1251-1253

[7] 刘英,吴曙光,尹州,等.指纹图谱技术在茶叶研究上的应用[J].茶叶科学,2013,33(1):13-20
LIU Ying, WU Shu-guang, YIN Zhou, et al. Application of fingerprint technique in tea research [J]. Journal of Tea Science, 2013, 33(1): 13-20

[8] Borse B B, Rao L J M, Nagalakshmi S, et al. Fingerprint of black teas from India: identification of the regio-specific characteristics [J]. Food Chemistry, 2002, 79(4): 419-424

[9] 叶国注,袁海波,江用文,等.Bayes 逐步判别法在绿茶板栗香化学识别上的应用[J].茶叶科学,2009,29(1):27-33
YE Guo-zhu, YUAN Hai-bo, JIANG Yong-wen, et al. Application of bayes stepwise discrimination analysis on chemical recognition of green tea with chestnut-like aroma [J]. Journal of Tea Science, 2009, 29(1): 27-33

[10] 郭丽,蔡良绥,林智,等.基于主成分分析法的白茶香气质量评价模型构建[J].热带作物学报,2010(9):1606-1610
GUO Li, CAI Liang-sui, LIN Zhi, et al. Modeling of aroma quality evaluation in white tea based on principal component analysis [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2010(9): 1606-1610

[11] 黄亚辉,陈建华,周筠,等.不同年代茯砖茶感官品质和化学成分的差异性[J].食品科学,2010,31(2):228-232
HUANG Ya-hui, CHEN Jian-hua, ZHOU Yun, et al. Differences in sensory quality and chemical composition of fuzhuan tea of different storage ages [J]. Food Science, 2010, 31(2): 228-232

[12] 成浩,王丽鸳,周健,等.基于化学指纹图谱的绿茶原料品种判别分析[J].中国农业科学,2008,41(8):2413-2418
CHENG Hao, WANG Li-yuan, ZHOU Jian, et al. Discriminant classification of green tea's raw material cultivar based on multiple chemical fingerprint [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(8): 2413-2418

[13] 朱潘炜,周建弟,刘东红.不同年份黄酒基酒 HS-SPME-GCMS 指纹图谱的建立[J].中国食品学报,2012, 12(2): 165-172
ZHU Pan-wei, ZHOU Jian-di, LIU Dong-hong, et al. Establishment of chromatographic control fingerprint of different years base chinese rice wine by headspace solid phase microextraction followed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (HS-SPME-GC-MS) [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012,

12(2): 165-172

[14] LV Hai-peng, ZHONG Qiu-sheng, LIN Zhi, 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

[15] 李雅萍,贺丽苹,陈玉芬,等.SPME-GC/MS 联用技术分析蜂胶中挥发性成分的研究[J].现代食品科技,2007,23(7):78-80
LI Ya-ping, HE Li-ping, CHEN Yu-fen, et al. Identification of volatile components in Chinese propolis by solid phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC/MS) [J]. Modern Food Science and Technology, 2007, 23(7): 78-80

[16] 王华夫.茶叶香型与芳香物质[J].中国茶叶,1989,2:16-17
WANG Hua-fu. Aroma type of tea and flavor compounds [J]. Chinese Tea, 1989, 2: 16-17

现代食品科技