

黄化变异对英红九号红茶香气的影响

陈维¹, 祁丹丹¹, 王雯雯², 苗爱清¹, 庞式¹, 马成英¹

(1. 广东省农业科学院茶叶研究所, 广东省茶树资源创新利用重点实验室, 广东广州 510640)

(2. 安捷伦科技(中国)有限公司, 北京 100102)

摘要: 英红九号的黄化变异植株嫩梢存在叶绿体发育缺陷, 叶片光合作用与代谢积累的改变或会影响茶叶品质。为明确黄化变异对红茶香气的影响, 本文分别以黄化变异和叶色正常英红九号为原料加工试验和对照红碎茶, 比较样品间感官香气与化合物的变化。感官审评结果表明, 黄化红碎茶的香气浓度整体弱于对照, 尤其在甜度与鲜度上。利用顶空固相微萃取和气相色谱-串联质谱法, 从两组样品中鉴别出 56 种香气化合物。依据出现频次和单因素方差分析筛选出 49 种差异成分, 随后进行化学计量分析与基于衍生途径的分类。结果表明, 利用 49 种化合物作为主成分能清晰区分两组样品; 10 种化合物有组成差异, 其中黄化样品的香气种类较少; 39 种化合物有含量差异, 其中 28 种化合物在黄化样品中显著下降, 11 种上升。差异香气主要涉及脂肪酸、类胡萝卜素氧化和萜类代谢相关的衍生途径。

关键词: 茶叶; 黄化变异; 红茶; 香气化合物; 气味; 顶空固相微萃取; 气相色谱-串联质谱

文章编号: 1673-9078(2018)10-231-239

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.10.031

The Effect of Chlorina on the Aroma of Yinghong9 Black Tea

CHEN Wei¹, QI Dan-dan¹, WANG Wen-wen², MIAO Ai-qing¹, PANG Shi¹, MA Cheng-ying¹

(1. Guangdong Key Laboratory of Tea Plant Resources Innovation and Utilization, Tea Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

(2. Agilent Technologies (China) Co. Ltd., Beijing 100102, China)

Abstract: The chlorina Yinghong9 which occur in yellow young leaves during growing stage is a result of abnormal chloroplast development. The changes of photosynthesis and metabolite accumulation in chlorina Yinghong9 might potentially affect the quality of its processed tea. To reveal the possible tea aroma changes caused by chlorina, cut-tear-curl (CTC) black tea prepared from the chlorina and normal Yinghong9, marked as HY and CK (control) respectively, were selected to evaluate sensory aroma quality and volatile organic compounds (VOCs). The result of sensory evaluation indicated that an overall aroma intensity of HY black tea (especially in attributes of sweetness and freshness) decreases in comparison to the CK. A total of 56 VOCs were identified by headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) coupled with gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (GC/MS/MS) among the samples. Forty-nine differential VOCs were obtained between the sample groups according to the frequency of occurrence as well as univariate analysis. These VOCs were applied to chemometrics analyses and pathway-based classification subsequently. Clear separation was achieved among HY and CK samples in score plot of principle component analysis (PCA). Ten differential VOCs demonstrated composition variation between sample groups where HY black teas presented VOC varieties in lesser amount. Thirty-nine differential VOCs showed content variation between sample groups, and 28 of them decreased in HY black teas while the other 11 ones increased. The differential VOCs were mainly related to the tea aroma derivation pathways of fatty acid and carotenoids oxidation as well as the terpenoid biosynthesis.

Key words: tea; chlorina; black tea; volatile organic compounds (VOCs); odor; headspace-solid phase micro-extraction (HS-SPME); gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (GC/MS/MS)

叶色变异茶树资源不仅外观独特, 所制成茶也普遍品质独特。根据芽叶颜色的不同, 叶色突变茶树可

收稿日期: 2018-06-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31500563); 广东省级现代农业科技创新联盟建设 (2017LM1093)

作者简介: 陈维 (1989-), 男, 研究实习员, 研究方向: 茶叶加工

通讯作者: 马成英 (1985-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 茶叶加工

被分为白化、黄化和复色(花叶)变异三类^[1]。尽管它们在外观上不尽相同, 但叶片颜色的转变均主要源于叶绿体发育异常和叶绿素合成受阻^[2-4]; 而这也直接影响茶树正常光合作用和代谢物质积累, 进而引起所制成茶品质的转变。

相较于叶色正常茶叶, 白化或黄化原料所制成茶大多色泽浅嫩、滋味鲜爽, 这与鲜叶中品质相关成分

的转变关系密切。现时,针对叶色变异茶叶品质成分的研究主要集中在非挥发组分上,如与干茶颜色相关的叶绿素和其他色素,以及与鲜醇滋味相关的氨基酸和多酚类物质^[5-9]。

香气也是茶叶中重要的感官品质之一,是衡量茶叶品质的重要指标。成茶香气的形成受鲜叶中内涵物质的影响极大,白化或黄化茶叶内多种生化成分的改变或会进一步导致成品茶香气的变化。然而,针对叶色变异茶叶香气的报道相对较少。现有的研究主要集中在叶色变异红绿茶香气成分的分析与比较上^[10-16],选取的叶色正常对照茶样来源于不同茶树品种;由于样品间遗传背景的不同,因此反映出的香气差异并非完全是叶色变异的结果。虽然也有关于光敏白化品种“白鸡冠”自然白化与遮光复绿叶片香气差异的报道^[17],但遮光处理本身也会引起茶叶香气的转变^[18]。目前,叶色变异对成茶香气品质影响的不确定,不利于相关茶树资源的进一步开发利用。

英红九号是从云南大叶群体种中选育出的无性系品种^[19]。近年来,我们从该品种中获得了黄化变异材料。前期的研究已从叶色、叶绿体结构、离子组学、蛋白组学多个角度分析了黄化和叶色正常英九之间的差异,阐释了叶色变异的可能成因^[2]。

由于黄化与叶色正常英红九号的遗传背景相似,因此该材料不仅适用于分析叶色变异的机理,也是有利于研究叶色变异对成茶品质的影响。本文以黄化变异与叶色正常英红九号的一芽二叶为原料加工红碎茶,通过感官审评分析黄化对红茶感官香气表现的影响;利用顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用法提取并表征其中的香气化合物;进一步结合化学计量学手段,查明黄化变异对红碎茶香气组成和含量的影响,分析与感官香气转变的联系;并对两组样品的差异成分进行基于衍生途径的分类,讨论引起香气变化的可能原因。

1 材料与方 法

1.1 材料和主要仪器设备

1.1.1 实验材料

茶青原料:黄化变异英红九号(突变材料, HY)与叶色正常英红九号(对照材料, CK)茶叶如图 1 所示。两种茶青原料按一芽二叶标准于 2016 年 6 月在广东英德采收。

试剂: C7~C40 饱和正构烷烃混合标准品(美国 Supleco 公司);癸酸乙酯(色谱纯)(美国 Sigma-Aldrich 公司)。



图 1 黄化英红九号(HY)与叶色正常英红九号(CK)的表型

Fig.1 The phenotype of the chlorina (HY) and normal (CK)

Yinghong9

注:图片引用自文献[2]。

1.1.2 主要仪器设备

7890B-7000D 气相色谱-三重四极杆串联质谱联用仪(gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, GC/MS/MS),美国 Agilent 公司;DB-5MS 毛细管色谱柱(60 m×0.32 mm, 0.25 μm),美国 Agilent 公司;50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头,美国 Supleco 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 红碎茶样品的制备

将黄化变异与叶色正常英红九号鲜叶对半铺于萎凋槽上,在室温下实施鼓风萎凋使茶青含水量降至约 60%。萎凋后茶青通过转子机搅碎,28~32 °C 发酵 40 min,80 °C 提香机干燥 3 h 至含水量 6% 左右,制得黄化和对照英红九号红碎茶。为减少加工工艺对成茶香气的影响,每种原料在萎凋后分别取样 3 次并重复余下工艺,即获得每组各 3 份加工重复样。

1.2.2 红碎茶香气的感官审评

参照茶叶感官审评标准 GB/T 23776-2009 着重对红碎茶样品的感官香气进行审评^[20],其中香气评分由各组 3 份加工重复样品的评分均值确定。

1.2.3 顶空固相微萃取条件

准确称取 3.5 g 茶样,放入 150 mL 顶空瓶中,加入 10 μL 癸酸乙酯溶液(0.2 μg/μL)作为内标监控萃取的重复性,随后注入 10 mL 沸水,迅速拧紧顶空瓶瓶盖。将萃取装置转移到 65 °C 水浴中平衡 5 min,随后插入萃取装置,在 65 °C 吸附 40 min。进样时,萃取头在 GC/MS/MS 进样口处解吸附 4.5 min。每份重复样品萃取并进样测定 1 次。

1.2.4 气相色谱与质谱条件

气相条件:进样口运行不分流模式,温度保持在 270 °C。以氦气为载气,流量设置为 1 mL/min。程序升温:初始柱温 50 °C,保持 3 min,以 5 °C/min 升温

至 250 °C, 保持 5 min。质谱条件: 选用电子轰击离子源 (EI 源), 电子能量设为 70 eV, 传输线温度为 280 °C, 离子源温度为 280 °C, 四极杆温度均设为 150 °C; 运行全扫描模式, 扫描质量范围设定为 35~450 m/z ; 设 2 min 溶剂延迟时间。

1.3 数据分析

由 GC/MS/MS 采集得到的数据, 利用 Masshunter 工作站中的未知物分析软件 (Unknowns Analysis, Version B.08.00, 美国 Agilent 公司) 进行处理。化合物依据质谱匹配度和线性保留指数定性; 通过比对 NIST14 库, 选取质谱匹配度大于 75.0 且保留指数接近报道值 (偏差在 ± 5 个单位内) 的化合物用于后续分析。其中, 线性保留指数的计算方法参照 Van den Dool 和 Kratz 的定义与 Babushok 等的报道的计算公式^[21,22]。由于两组样品间癸酸乙酯内标的峰面积接近 (表 2) 且差异不显著 (t 检验, $p \geq 0.05$), 说明实验重复性良好; 故参考相关文献^[23], 采用基峰面积对定性后化合物进行定量。

将定性定量后的数据组导入化学计量学分析软件 Mass Profiler Professional (Version B.14.9, 美国 Agilent 公司) 进行差异化合物筛选和计量学分析。通过以 2 为底数的对数变换和 Z-transform 标准化 (减均值除以标准差) 的数据组, 按以下参数逐步过滤化合物: (1) 组内最小出现频次大于 50%; (2) t 检验中显著差异 p 值小于 0.05。对筛选出的差异化合物分别进行主成分分析 (Principle Component Analysis, PCA), 层次聚类分析 (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) 和维恩图分析 (Venn diagram); 同时参考文献^[24-27], 依据涉及的衍生途径对差异化合物进行分类, 以揭示黄化变

异对红碎茶香气的的影响。

2 结果与讨论

2.1 黄化变异与叶色正常英红九号红碎茶感官香气的比较

黄化变异与叶色正常英红九号红碎茶的感官香气品质和香气评分如表 1 所示。两组样品均表现出鲜甜的香气特征, 但黄化红茶整体香气浓度较低, 尤其在甜度和鲜度上均不如对照样品突出。

表 1 黄化变异与叶色正常英红九号红碎茶的感官香气品质及评分

红碎茶原料	香气品质	香气评分
黄化变异英红九号(HY)	鲜甜较低、较浓郁	81.7
叶色正常英红九号(CK)	鲜甜、浓郁	86.3

2.2 黄化变异与叶色正常英红九号红碎茶香气化合物组成和含量的比较

从黄化变异与叶色正常英红九号红碎茶中一共鉴别出 56 种香气化合物, 其中黄化样品中有 47 种, 对照样品中 55 种。这些化合物的线性保留指数、定性与定量结果以及部分香气品质均列于表 2。两组样品的总离子色谱图如图 2 所示。从化合物的分类上看, 56 种化合物中有 15 种醇类、14 种醛类、10 种烃类、9 种酯类、4 种酮类以及 4 种含氧化合物。

表 2 黄化变异 (HY) 与叶色正常 (CK) 英红九号红碎茶香气化合物的组成和含量

Table 2 The compositions and contents of VOCs between the CTC black teas prepared by the chlorina (HY) and normal (CK)

编号	化合物	线性保留指数	Yinghong9 ($\bar{x} \pm s$)		香气品质 ⁱ
			基峰面积 ($\times 10^4$)		
			HY	CK	
I 组成差异化合物					
1	1-辛烯-3-醇	978	6.20 \pm 0.65	- ⁱⁱ	蘑菇气味 ^[28]
2	乙酸叶醇酯	1003	-	1.77 \pm 0.12	青气、香蕉气味 ^[28]
3	对甲基异丙基苯	1026	-	4.56 \pm 0.28	柑橘气味 ^[28]
4	丁酸己酯	1190	-	4.87 \pm 0.28	苹果皮气味 ^[28]
5	橙花醇	1226	-	7.31 \pm 0.46	柑橘气、花香 ^[28]
6	顺-3-己烯醇-2-甲基丁酸酯	1230	-	8.50 \pm 0.48	甜香、香草气 ^[28]
7	己酸-顺-3-己烯酯	1383	-	6.51 \pm 0.35	果香、干果香 ^[28]
8	α -法呢烯	1504	-	2.05 \pm 0.06	木香、甜香 ^[28]

转下页

接上页

9	δ -杜松萜烯	1525	-	2.32 \pm 0.22	百里香、药香、木香 ^[28]
10	植醇	2110	-	1.26 \pm 0.34	花香 ^[28]
II 含量差异化合物(p<0.05)					
11	甲苯	763	21.07 \pm 0.75	18.95 \pm 0.41	油漆气味 ^[28]
12	3-糠醛	830	11.90 \pm 1.29	8.86 \pm 1.08	未查得
13	反-2-己烯醛	850	22.80 \pm 0.87	29.12 \pm 1.84	青味、绿叶气 ^[28]
14	反-2-己烯-1-醇	862	2.19 \pm 0.20	6.90 \pm 0.26	青味、绿叶气、核桃气味 ^[28]
15	正己醇	865	1.04 \pm 0.04	2.35 \pm 0.37	松香、花香、青香 ^[28]
16	2-庚醇	900	8.30 \pm 1.22	12.06 \pm 0.23	未查得
17	反,反-2,4-己二烯醛	911	4.29 \pm 0.43	6.39 \pm 0.16	青气 ^[28]
18	β -香叶烯	988	14.78 \pm 1.59	21.89 \pm 1.01	葡萄醋、葡萄果浆气味 ^[28]
19	2-戊基呋喃	989	17.38 \pm 2.42	22.31 \pm 1.43	未查得
20	反,反-2,4-庚二烯醛	1012	28.47 \pm 1.30	40.00 \pm 0.88	果仁香、油脂气 ^[28]
21	柠檬烯	1031	4.13 \pm 0.48	6.00 \pm 0.36	柠檬气味、橙子气味 ^[28]
22	β -罗勒烯	1046	20.02 \pm 0.96	23.84 \pm 1.10	甜香、香草气 ^[28]
23	苯乙醛	1047	846.34 \pm 19.29	719.02 \pm 37.01	蜜香、甜香 ^[28]
24	1-乙基-1H-吡咯-2-甲醛	1051	13.26 \pm 0.53	16.65 \pm 0.67	烘烤气味、焦气味 ^[28]
25	反-2-辛烯醛	1058	1.47 \pm 0.09	2.47 \pm 0.12	青气、果仁香、油脂气 ^[28]
26	反,反-3,5-辛二烯-2-酮	1069	6.17 \pm 0.33	7.39 \pm 0.65	果香、油脂气、蘑菇香气 ^[28]
27	芳樟醇氧化物 I	1073	6.20 \pm 0.39	9.45 \pm 0.44	甜香、花香 ^[29]
28	芳樟醇氧化物 II	1089	19.38 \pm 1.17	26.79 \pm 1.43	甜香、花香 ^[29]
29	芳樟醇	1103	296.00 \pm 15.92	466.76 \pm 16.97	花香、紫罗兰香 ^[28]
30	苯乙醇	1116	23.31 \pm 0.64	37.80 \pm 1.57	蜜香、玫瑰香 ^[28]
31	反-2-壬烯醛	1160	1.24 \pm 0.06	1.39 \pm 0.01	黄瓜气味、青气、油脂气 ^[28]
32	正壬醇	1171	1.91 \pm 0.12	1.46 \pm 0.07	油脂气、柑橘香、青气 ^[28]
33	丁酸-顺-3-己烯酯	1184	4.83 \pm 0.35	25.14 \pm 1.71	青气、酒香 ^[28]
34	水杨酸甲酯	1197	55.92 \pm 0.25	78.89 \pm 2.40	薄荷香 ^[28]
35	藏红花醛	1204	3.94 \pm 0.24	2.44 \pm 0.10	香草气、甜香 ^[28]
36	癸醛	1206	2.37 \pm 0.22	2.05 \pm 0.07	橙子皮气味、肥皂气味 ^[28]
37	β -环柠檬醛	1224	4.30 \pm 0.20	5.05 \pm 0.22	柠檬香 ^[28]
38	3-苯基呋喃	1227	5.15 \pm 0.18	4.24 \pm 0.03	青气、果仁香 ^[30]
39	异香叶醇	1241	0.98 \pm 0.03	1.34 \pm 0.10	玫瑰香 ^[28]
40	香叶醇	1250	17.95 \pm 0.18	22.45 \pm 1.35	玫瑰香、天竺葵香 ^[28]
41	2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-乙醛	1261	2.12 \pm 0.10	2.63 \pm 0.13	未查得
42	2-苯基-2-丁烯醛	1272	6.68 \pm 0.19	4.73 \pm 0.25	可可气味、烘烤气味 ^[30]
43	2-甲基萘	1305	6.42 \pm 0.70	4.99 \pm 0.53	未查得
44	茶螺烷	1323	4.12 \pm 0.17	3.68 \pm 0.12	黑醋栗气味、樟脑气味 ^[31]
45	己酸-顺-3-己烯酯	1379	10.34 \pm 0.18	54.76 \pm 4.10	果香、干果香、甜香 ^[28,32]
46	己酸-反-2-己烯酯	1387	5.36 \pm 0.09	25.53 \pm 1.59	青草气、果香、刺鼻气味 ^[33]
47	α -紫罗兰酮	1428	2.03 \pm 0.10	3.39 \pm 0.13	木香、紫罗兰香 ^[28]
48	香叶基丙酮	1448	5.80 \pm 0.99	4.24 \pm 0.32	木兰香、青气 ^[28]
49	β -紫罗兰酮	1484	20.53 \pm 0.41	28.13 \pm 0.87	花香、紫罗兰香 ^[28]

转下页

接上页

III 差异不显著化合物($p \geq 0.05$)					
50	己醛	798	7.64±0.78	6.77±0.13	
51	苯甲醛	964	241.84±12.04	250.23±11.85	
52	芳樟醇氧化物IV	1177	6.33±0.72	7.45±0.53	
53	正十四烷	1400	7.10±1.57	6.01±0.66	
54	反-橙花叔醇	1563	8.02±0.42	6.96±0.75	
55	正十六烷	1599	3.05±0.77	2.88±0.50	
56	棕榈酸甲酯	1923	1.87±0.10	2.04±0.31	
IV 内标					
57	癸酸乙酯	1396	1125.8±45.6	1104.4±95.5	

注: i.表中仅列出组成或含量差异化合物的香气品质; ii.“-”表示该化合物未在样品组中检出。

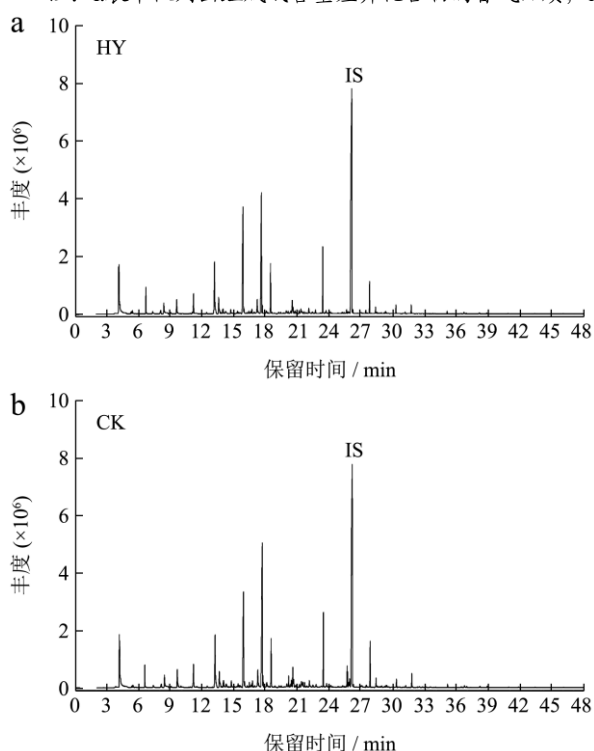


图2 黄化变异(HY)与叶色正常(CK)英红九号红碎茶的总离子色谱图

Fig.2 The total ion chromatographies of the CTC black teas prepared by the chlorina (HY) and normal (CK) Yinghong9

注: IS 标记的峰为内标峰。

以出现频次(>50%)和显著性($p < 0.05$)为依据,通过 Mass Profiler Professional 软件从 56 种香气成分中筛选出差异化合物 49 种。选取这些化合物进行主成分分析(PCA),结果如得分图(图3)所示,前两个主成分(PC1 和 PC2)的方差贡献率分别为 91.0%和 5.4%,即累计方差贡献率达到 96.4%,基本涵盖了原数据组中的信息。6 份红碎茶样品按黄化与对照处理分别归为两类,并在 PC1 方向上有清晰的区分。PCA 的结果表明,49 种差异化合物能很好地反映茶叶黄化变异对红碎茶香气的影

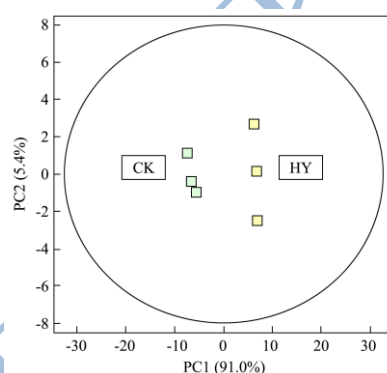


图3 基于黄化变异(HY)与叶色正常(CK)英红九号红碎茶间 49 种差异化合物的 PCA 得分图

Fig.3 The PCA score plot based on the 49 differential VOCs between the CTC black teas prepared from the chlorina (HY) and normal (CK) Yinghong9

49 种组成和含量差异化合物在黄化变异与叶色正常英红九号红碎茶间的分布如维恩图(图4)所示。黄化红碎茶中有差异化合物 40 种,对照红碎茶中有 48 种。其中,在两组样品内均能被检出的化合物有 39 种,占差异组分的 79.6%;仅出现于对照组的化合物有 9 种,占 18.4%;仅出现于黄化组的化合物只有 1 种,占 2.0%。可见,两组红碎茶间以含量差异化合物为主(39 种),组成差异化合物其次(10 种);同时,从化合物种类上看,黄化红碎茶的香气成分较对照中的少。为进一步分析 39 种含量差异化合物在黄化与对照红碎茶之间的变化情况,基于它们进行层次聚类分析,结果以树状图辅以热度图的形式表示(图5)。树状图将 39 种化合物清晰地分为两类:类 I 包含 12 种在黄化红碎茶中含量较高的香气化合物,其中藏红花醛(1.61 倍)表现出较大的差异倍数(表 2);类 II 包含 27 种在对照红碎茶中含量较高的香气化合物,其中己酸-顺-3-己烯酯(5.30 倍)、丁酸-顺-3-己烯酯(5.21 倍)、己酸-反-2-己烯酯(4.76 倍)、反-2-己烯-1-醇(3.15 倍)、正己醇(2.25 倍)、反-2-辛烯醛(1.67 倍)、 α -

紫罗兰酮 (1.67 倍)、苯乙醇 (1.62 倍)、芳樟醇氧化物 I (1.58 倍) 和芳樟醇 (1.53 倍) 的差异倍数较大, 均达到 1.5 以上 (表 2)。可见, 多数含量差异化合物表现出在黄化红碎茶中较低, 而在对照红碎茶中较高的现象。

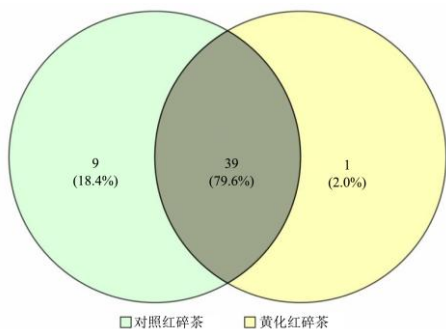


图 4 基于黄化变异与叶色正常英红九号红碎茶间 49 种差异香气化合物的维恩图

Fig.4 The Venn diagram based on the 49 differential VOCs between the CTC black teas prepared by the chlorina and normal Yinghong9

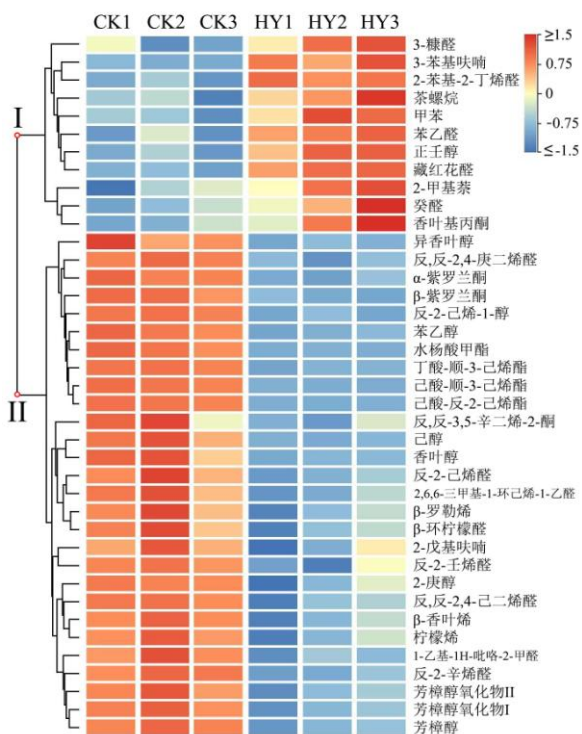


图 5 基于黄化变异 (HY) 与叶色正常 (CK) 英红九号红碎茶间 39 种含量差异化合物的 HCA 树状图和热度图

Fig.5 HCA dendrogram and heatmap based on the 39 content-differential VOCs between the CTC black teas prepared by the chlorina (HY) and normal (CK) Yinghong9

2.3 黄化变异与叶色正常英红九号红碎茶间

香气化合物和感官香气变化的联系

茶叶感官香气的转变是香气化合物组成和含量变化的结果。与叶色正常英红九号红碎茶相比, 黄化红碎茶在香气的甜度、鲜度以及整体浓度上均较弱 (表 1)。从 56 种香气成分中共筛选差异化合物 49 种 (表 2); 基于它们的 PCA 能清晰地区分黄化与对照样品 (图 3), 说明这 49 种化合物很好地反映了两组红碎茶间的香气组成和含量差异, 或与感官香气的转变较具联系。黄化红碎茶感官香气甜度的降低可能与丁酸己酯、橙花醇、顺-3-己烯醇-2-甲基丁酸酯、己酸-顺-3-己烯酯、 α -法呢烯和叶绿醇的缺失, 以及 β -罗勒烯、芳樟醇氧化物 I、芳樟醇氧化物 II、芳樟醇、苯乙醇、异香叶醇、香叶醇、己酸-顺-3-己烯酯、己酸-反-2-己烯酯、 α -紫罗兰酮和 β -紫罗兰酮含量的显著减少相关 (表 2)。这些化合物普遍具有甜香、果香或花香的感官品质 (表 2), 其中芳樟醇氧化物 I 和 II、芳樟醇、苯乙醇、香叶醇、 α -紫罗兰酮以及 β -紫罗兰酮具有较低的香气阈值^[34]。同时, 反-2-己烯醛、反,反-2,4-己二烯醛、 β -香叶烯、柠檬烯和水杨酸甲酯也是红茶中重要的呈香物质^[33,35]。它们在黄化红碎茶中显著的减少 (表 2) 也可能是导致其整体感官香气浓度弱于对照样品的原因之一。值得注意的是, 少数红茶中常见的呈香物质如苯乙醛 (蜜香、甜香)、藏红花醛 (香草气、甜香) 和香叶基丙酮 (木兰香、青气)^[33,35] 有在黄化红碎茶中表现出显著上升的趋势 (表 2)。

2.4 黄化变异与叶色正常英红九号红碎茶间

差异香气化合物基于衍生途径的分类

从差异化合物的比较中可以看出, 黄化变异会引起英红九号红碎茶中多种香气组成和含量的改变。为观察不同衍生途径相关香气在不同样品间的变化趋势, 基于文献报道的香气来源对多数差异化合物分类^[24-27], 结果如图 6 所示。

茶叶中的香气主要来源于脂肪酸和类胡萝卜素的氧化、以及萜类和莽草酸代谢^[26]。根据衍生途径的不同, 黄化与对照红碎茶间的差异香气化合物主要可被分为四类: 脂肪酸衍生香气、类胡萝卜素衍生香气、萜类香气和苯丙素/苯型类香气^[36]。其中, 脂肪酸衍生香气的种类最多共 19 种, 包括 1-辛烯-3-醇、乙酸叶醇酯、丁酸己酯、顺-3-己烯醇-2-甲基丁酸酯、己酸-顺-3-己烯酯、反-2-己烯醛、反-2-己烯-1-醇、正己醇、2-庚醇、反,反-2,4-己二烯醛、反,反-2,4-庚二烯醛、反-2-辛烯醛、反,反-3,5-辛二烯-2-酮、反-2-壬烯醛、正壬醇、丁酸-顺-3-己烯酯、癸醛、己酸-顺-3-己烯酯和己酸-反-2-己烯酯。它们多数在黄化样品中含量较低或缺失。类胡

萝卜素衍生香气有 8 种,其中半数以上化合物如 α -法呢烯、 β -环柠檬醛、2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-乙醛、 α -紫罗兰酮和 β -紫罗兰酮在黄化红碎茶中含量较低或缺失,而藏红花醛、茶螺烷和香叶基丙酮则在对照中含量较低。萜类香气有 11 种,包括橙花醇、 δ -杜松萜烯、植醇、 β -香叶烯、柠檬烯、 β -罗勒烯、芳樟醇氧化物 I、芳樟醇氧化物 II、芳樟醇和香叶醇。它们均在黄化组中表现出含量降低或缺失。苯丙素/苯型类香气有 3 种,其中苯乙醛在黄化样品中有较高含量,而苯乙醇和水杨酸甲酯则含量较低。总体而言,两种红碎茶间的差异香气化合物主要涉及与脂肪酸、类胡萝卜素氧化以及萜类代谢相关的衍生途径。脂肪酸衍生香气和萜类香气在两组红碎茶间的变化趋势较一致,即在黄化组中含量较低或缺失,而半数以上的类胡萝卜素衍生香气也表现出类似变化趋势。

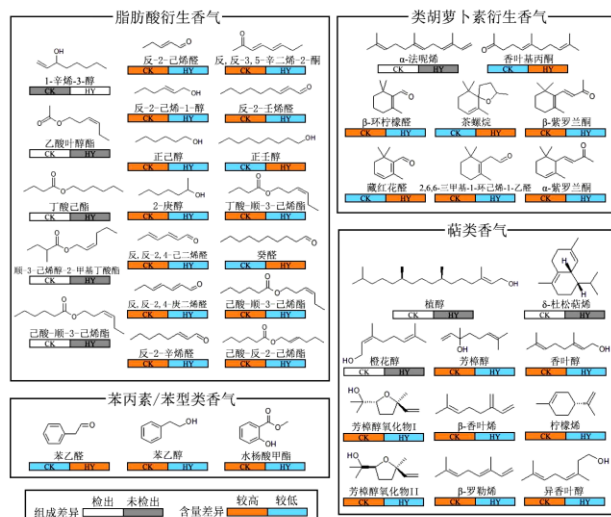


图 6 差异香气化合物基于衍生途径的分类

Fig.6 The classification of the differential VOCs based on the biosynthesis pathways

注: (1) CK 表示对照红碎茶, HY 表示黄化红碎茶; (2) 以黑白方框标记组成差异化合物, 其中白色表示在样品组中检出, 黑色表示未检出; 以橙蓝方框化合物标记含量差异化合物, 其中橙色表示在样品组中含量较高, 蓝色表示含量较低。

2.5 黄化变异引起英红九号红茶香气化合物转变原因的推测

鲜叶中的物质基础对成茶香气的形成影响关键。前期研究表明, 黄化英红九号叶片中的叶绿体数量较少且结构异常^[2], 这必然会影响叶片正常的光合作用和代谢物质的积累。黄化与对照英红九号红碎茶香气间的差异可能来源于此。从基于来源的化合物分类上看, 两种红碎茶间的差异香气化合物主要涉及与脂肪酸、

类胡萝卜素氧化以及萜类代谢相关的衍生途径(图 6)。黄化英红九号中叶绿体的缺失和异常可能会影响香气衍生途径中部分代谢物的合成、积累或转化。叶绿体作用于叶片中脂肪酸的合成^[37], 而位于其中的脂氧化酶也对脂肪酸向香气的转化影响关键^[27]; 同时叶绿体也是部分胡萝卜素的合成和积累的场所^[38,39]; 与单萜、二萜等萜类香气合成相关的 MEP (Methylerythritol 4-phosphate) 途径也需在叶绿体等质体中实施^[40,41]。因此, 叶绿体发育异常或是引起脂肪酸、类胡萝卜素衍生香气和萜类香气变化的原因之一。

3 结论

3.1 相较于叶色正常样品, 黄化变异英红九号所制红碎茶在感官香气的整体浓度有所减弱, 尤其在甜度与鲜度上。从化合物的变化上看, 黄化与对照红碎茶间有差异化合物 49 种, 基于它们的主成分分析对两组样品有很好的区分。10 种化合物有组成差异, 其中黄化样品的香气种类较少; 39 种化合物有含量差异, 其中 28 种化合物在黄化样品中显著下降, 11 种显著上升。

3.2 丁酸己酯、橙花醇、顺-3-己烯醇-2-甲基丁酸酯、芳樟醇氧化物 I 和 II、苯乙醇、 β -紫罗兰酮等香气化合物在黄化红碎茶中缺失或减少, 可能与香气甜度的减弱相关; 而反-2-己烯醛、反,反-2,4-己二烯醛、 β -香叶烯、柠檬烯和水杨酸甲酯的显著降低也可能是导致黄化红碎茶整体香气浓度减弱的原因之一。

3.3 黄化变异与叶色正常英红九号红碎茶间的差异香气化合物主要涉及与脂肪酸、类胡萝卜素氧化以及萜类代谢相关的衍生途径。

参考文献

- [1] 王开荣,梁月荣,李明,等.白化和紫化茶种质资源开发进展[J].中国茶叶加工,2015,3:5-8
WANG Kai-rong, LIANG Yue-rong, Li Ming, et al. Progress in the development of germplasm resources for albino and purple tea cultivars [J]. China Tea Processing, 2015, 3: 5-8
- [2] Ma C, Cao J, Li J, et al. Phenotypic, histological and proteomic analyses reveal multiple differences associated with chloroplast development in yellow and variegated variants from *Camellia sinensis* [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 33369
- [3] Li Q, Huang J, Liu S, et al. Proteomic analysis of young leaves at three developmental stages in an albino tea cultivar [J]. Proteome Science, 2011, 9(1): 44
- [4] Liu G F, Han Z X, Feng L, et al. Metabolic flux redirection

- and transcriptomic reprogramming in the albino tea cultivar 'Yu-Jin-Xiang' with an emphasis on catechin production [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 45062
- [5] Feng L, Gao M J, Hou R Y, et al. Determination of quality constituents in the young leaves of albino tea cultivars [J]. Food Chemistry, 2014, 155(11): 98-104
- [6] Wei K, Wang L Y, Zhou J, et al. Comparison of catechins and purine alkaloids in albino and normal green tea cultivars (*Camellia sinensis* L.) by HPLC [J]. Food Chemistry, 2012, 130(3): 720-724
- [7] 李明,张龙杰,石萌,等.光照敏感型新梢白化茶新品种'御金香'春梢化学成分研究[J].茶叶,2016,42(3):146-149
LI Ming, ZhANG Jie-long, SHI Meng, et al. Chemical composition of spring shoots in light-sensitive albino tea cultivar 'Yujinxiang' [J]. Journal of Tea, 2016, 42(3): 146-149
- [8] Du Y Y, Liang Y R, Wang H, et al. A study on the chemical composition of albino tea cultivars [J]. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2006, 81(5): 809-812
- [9] Xiong L, Li J, Li Y, et al. Dynamic changes in catechin levels and catechin biosynthesis-related gene expression in albino tea plants (*Camellia sinensis* L.) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 71: 132-143
- [10] 刘秀峰,敖存,毛宇晓,等.千岛银珍茶适制品种筛选研究[J].安徽农业科学,2017,45(31):82-85
LIU Xiu-feng, AO Cun, MAO Yu-xiao, et al. Screening study on the tea varieties suitable for processing Qiandaoyin zhen tea [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(31): 82-85
- [11] 马林龙,金孝芳,曹丹,等.湖北引种高氨基酸茶树品种的绿茶适制性分析[J].浙江农业学报,2017,29(2):251-260
MA Lin-long, JIN Xiao-fang, CAO Dan, et al. Suitability for processing green tea from high amino acid content of tea introduced to Hubei Province [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2017, 29(2): 251-260
- [12] 徐元骏,何靓,贾玲燕,等.不同地区及特殊品种红茶香气的差异性[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2015,41(3): 323-330
XU Yuan-jun, HE Liang, JIA Ling-yan, et al. Differentiation of aroma composition in different regions and special varieties of black tea [J]. Journal of Zhejiang University(Agriculture and Life Sciences), 2015, 41(3): 323-330
- [13] 陈熠敏,何洪,王远兴.靖安白茶与安吉白茶特征香气成分的比较[J].南昌大学学报(理科版),2015,39(6):573-578
CHEN Yi-min, HE Hong, WANG Yuan-xing. Comparisons of characteristic aroma components of Jing'an white tea and Anji white tea [J]. Journal of Nanchang University (Nature Science), 2015, 39(6): 573-578
- [14] 邓静,王远兴,陈赟喆,等.顶空-三重串联四极杆气-质联用法测定靖安白茶香气成分[J].食品科学,2013,34(22):115-118
DENG Jing, WANG Yuan-xing, CHEN Yi-min, et al. Analysis of aroma components in Jing'an white tea by HS-GC-QQQ-MS [J]. Food Science, 2013, 34(22):115-118
- [15] 姜玉芳,吕世懂,吴远双,等.顶空固相微萃取法分析安吉白茶香气成分[J].光谱实验室,2013,30(5):2078-2083
JIANG Yu-fang, LV Shi-dong, WU Yuan-shuang, et al. Analysis of aroma constituents in Anjibaicha by HS-SPME [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2013, 30(5): 2078-2083
- [16] 狄德荣."安吉红茶"理化成分分析及呈香活性成分鉴定[D].杭州:浙江农林大学,2014:
DI De-rong. Analysis of physicochemical compositions of "An'ji black tea" and identification its aroma-active components [D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2014
- [17] 吴全金.'白鸡冠'茶树响应光调控的基因差异及理化特征分析[D].福州:福建农林大学,2015
WU Quan-jin. Genn differential analysis and physicochemical characteristics of *Camellia sinensis* cv. Baijiguan in response to light [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2015
- [18] Yang Z, Kobayashi E, Katsuno T, et al. Characterisation of volatile and non-volatile metabolites in etiolated leaves of tea (*Camellia sinensis*) plants in the dark [J]. Food Chemistry, 2012, 135(4): 2268-2276
- [19] 李家贤,曾佛桂,邱陶瑞,等.大叶茶新品种英红 9 号的选育及利用[J].广东农业科学,1999,1:26-28
- [20] 茶叶感官审评,GB/T 23776-2009[S]
- [21] Van den Dool H, Kratz P D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 1963, 11: 463-471
- [22] Babushok V I, Linstrom P J, Zenkevich I G Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils [J]. Journal of Physical and Chemical Reference Data, 2011, 40(4): 1-47
- [23] Qi D, Miao A, Cao J, et al. Study on the effects of rapid aging technology on the aroma quality of white tea using GC-MS combined with chemometrics: in comparison with natural

- aged and fresh white tea [J]. Food Chemistry, 2018, 265: 189-199
- [24] Winterhalter P, Rouseff R. Carotenoid-derived aroma compounds [M]. Washington: American Chemical Society, 2002
- [25] Schwab W, Davidovich-Rikanati R, Lewinsohn E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds [J]. The Plant Journal, 2008, 54(4): 712-732
- [26] Yang Z, Baldermann S, Watanabe N. Recent studies of the volatile compounds in tea [J]. Food Research International, 2013, 53(2): 585-599
- [27] Ho C T, Zheng X, Li S. Tea aroma formation [J]. Food Science and Human Wellness, 2015, 4(1): 9-27
- [28] Acree T, Arn H. Flavornet and human odor space [DB/OL]. 2004. [2018-06-01]. <http://www.flavornet.org/flavornet.html>
- [29] Wang D, Ando K, Morita K, et al. Optical isomers of linalool and linalool oxides in tea aroma [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1994, 58(11): 2050-2053
- [30] Afoakwa E O, Paterson A, Fowler M, et al. Matrix effects on flavour volatiles release in dark chocolates varying in particle size distribution and fat content using GC-mass spectrometry and GC-olfactometry[J]. Food Chemistry, 2009, 113(1): 208-215
- [31] Scholtes C, Nizet S, Massart H, et al. Occurrence of theaspirane and its odorant degradation products in hop and beer [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(37): 8247-8253
- [32] Gong X, Han Y, Zhu J C, et al. Identification of the aroma-active compounds in Longjing tea characterized by odor activity value, gas chromatography-olfactometry, and aroma recombination [J]. International Journal of Food Properties, 2017: 1-15
- [33] Joshi R, Gulati A. Fractionation and identification of minor and aroma-active constituents in Kangra orthodox black tea [J]. Food Chemistry, 2015, 167: 290-298
- [34] Van Gemert L J. Odour thresholds: compilations of odour thresholds values in air, water and other media (second enlarge and revised edition) [M]. Utrecht: Oliemans Punter and Partners, 2006
- [35] Mao S, Lu C, Li M, et al. Identification of key aromatic compounds in Congou black tea by PLSR with variable importance of projection scores and gas chromatography-mass spectrometry/gas chromatography-olfactometry [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018. [2018-06-01]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.9066>
- [36] Zeng L, Zhou Y, Fu X, et al. Does oolong tea (*Camellia sinensis*) made from a combination of leaf and stem smell more aromatic than leaf-only tea? Contribution of the stem to oolong tea aroma [J]. Food Chemistry, 2017, 237: 488-498
- [37] Harwood J L. Fatty acid metabolism [J]. Annual review of plant physiology and plant molecular biology, 1988, 39(1): 101-138
- [38] Cazzonelli C I, Pogson B J. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants [J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(5): 266-274
- [39] Lichtenthaler H K. Biosynthesis, accumulation and emission of carotenoids, α -tocopherol, plastoquinone, and isoprene in leaves under high photosynthetic irradiance [J]. Photosynthesis Research, 2007, 92(2): 163-179
- [40] Lichtenthaler H K. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants [J]. Annual Review of Plant Biology, 1999, 50(1): 47-65
- [41] Nagegowda D A. Plant volatile terpenoid metabolism: biosynthetic genes, transcriptional regulation and subcellular compartmentation [J]. FEBS Letters, 2010, 584(14): 2965-2973