

比较不同贮藏年份宁红金毫中香气组分的变化

陈罗君¹, 刘亚男², 樊耀林¹, 徐天星¹, 张丽², 李军¹, 姚丽萍³, 高银祥^{2*}

(1. 九江市修水茶叶科学研究所, 江西九江 332400) (2. 九江学院江西油茶研究中心, 江西九江 332000)

(3. 九江学院药学与生命科学学院, 江西九江 332000)

摘要: 为了解宁红金毫红茶在贮藏过程中其香气组分发生变化情况, 该研究利用顶空固相微萃取 (Headspace Solid-Phase Microextraction, HS-SPME) 结合气相色谱质谱 (Gas Chromatograph-Mass Spectrometer, GC/MS) 联用分析技术, 对贮藏 0、1、2、3 年的宁红金毫香气组分进行分析。结果表明, 从不同贮藏年份宁红金毫中共鉴别出 81 种香气组分, 不同贮藏年份的宁红金毫香气组分有显著差异, 主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA)、偏最小二乘法-判别分析 (Partial Least Squares-Discriminant Analysis, PLS-DA) 香气组分相对含量, 可以有效区分不同贮藏年份的宁红金毫。不同贮藏年份宁红金毫中主要由 14 种关键香气组分变化引起的, 分别是: 香叶醇、水杨酸甲酯、苯甲醇、苯乙醛、苯乙醇、芳樟醇、2,4,6-三叔丁基苯酚、反式氧化芳樟醇 (呋喃类)、苯甲醛、雪松烯、顺式氧化芳樟醇 (吡喃类)、乙酸香叶酯、2-己烯醛、香叶酸甲酯。随着贮藏时间的增加: 苯乙醇、雪松烯、反式氧化芳樟醇 (呋喃类)、顺式氧化芳樟醇 (吡喃类)、苯甲醛、2-己烯醛这些香气组分含量呈现增加趋势; 乙酸香叶酯、香叶醇、水杨酸甲酯这些香气组分含量呈现降低趋势; 香型表现为: 蜜香、果香增强, 花香减弱。该研究结果可为今后宁红金毫生产加工及贮藏提供理论支持。

关键词: 宁红金毫红茶; HS-SPME-GC/MS; 香气组分; 贮藏

文章编号: 1673-9078(2023)05-271-280

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.5.0732

Comparison of Changes in the Aroma Components of Ninghong Jinhao Stored for Different Periods

CHEN LuoJun¹, LIU Ya'nan², FAN Yaolin¹, XU Tianxing¹, ZHANG Li², LI Jun¹, YAO Liping³, GAO Yinxiang^{2*}

(1. Tea Research Institute of Jiujiang Xiushui, Jiujiang 332400, China) (2. Institute of Jiangxi Oil-tea Camellia, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China) (3. College of Pharmacy and Life Sciences, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China)

Abstract: To understand changes in the aroma components of Ninghong Jinhao black tea during storage, an analytical technique combining headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used and the aroma components of Ninghong Jinhao stored for 0, 1, 2, and 3 years were evaluated. A total of 81 aroma components were identified in Ninghong Jinhao stored for different durations, and significant differences were noted certain aroma components. Principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) of the relative contents of aroma components could effectively distinguish Ninghong Jinhao stored for different periods. A total of 14 aroma components, including geraniol, methyl salicylate, benzyl alcohol, phenylacetaldehyde, phenylethyl alcohol, linalool, 2,4,6-tri-tert-butylphenol, (E)-linalool oxide (furanoid), benzaldehyde, cedrene, (Z)-linalool oxide (pyranoid), geranyl acetate, (E)-2-hexenal, and methyl geranate, were identified as the key compounds to distinguish Ninghong Jinhao stored for different periods. With the extension of storage periods, the contents of aroma components, including phenylethyl alcohol, cedrene, (E)-linalool oxide (furanoid), (Z)-linalool oxide (pyranoid), benzaldehyde, and (E)-2-hexenal, exhibited an increasing trend, whereas the contents of geranyl acetate, geraniol, and methyl

引文格式:

陈罗君,刘亚男,樊耀林,等.比较不同贮藏年份宁红金毫中香气组分的变化[J].现代食品科技,2023,39(5):271-280.

CHEN LuoJun, LIU Yanan, FAN Yaolin, et al. Comparison of changes in the aroma components of ninghong jinhao stored for different periods [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(5): 271-280.

收稿日期: 2022-06-10

基金项目: 江西省茶叶产业技术体系 (JXARS-02); 九江市重点研发计划项目 (2019003; S2021ZDYFN069)

作者简介: 陈罗君 (1987-), 男, 本科, 农艺师, 研究方向: 茶树新品种选育、茶园栽培管理、茶叶加工等, E-mail: 370665317@qq.com

通讯作者: 高银祥 (1980-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 茶叶品质化学, 茶叶关键风味物质分析及调控, E-mail: 4120001@jju.edu.cn

salicylate showed a decreasing trend. These trends manifested as the honey and fruity aromas were enhanced, and floral aroma were weakened. These findings can provide theoretical support for the production, processing, and storage of Ninghong Jinhao in the future.

Key words: Ninghong Jinhao black tea; HS-SPME-GC/MS; aroma components; storage

宁红茶产自江西省修水县,与祁红齐名^[1],金毫是以一芽一叶初展芽叶为原料,加工制成名优茶^[2]。宁红金毫是在修水县区域内,以宁州群体种茶树品种的单芽或一芽一叶初展芽叶为原料,采用工夫红茶的加工工艺制成,以其色泽乌润、条索紧秀、金毫显露、汤色红亮、甜香鲜醇、叶底细嫩红匀而享誉中外^[3]。

茶叶香气由挥发性物质组成,是评价茶叶的关键指标之一,茶叶的香气不但取决于挥发性香味组分的种类,还和这些香味组分的相对含量相关^[4]。顶空固相微萃取(HS-SPME)结合气相色谱质谱(GC/MS)联用分析技术,是利用相似相溶原理,通过固相萃取头涂层对茶叶香气物质进行富集,在GC/MS进样口用高温将萃取头香气物质解吸附,进行检测,具有分离效率高、鉴别能力强、易于定性定量等特点,可以真实的反映茶叶香味物质特征^[5]。冯花等^[6]利用HS-SPME-GC/MS联用技术分析了不同茶树品种白牡丹茶的香气组分,共检测出101个香气组分;岳翠男等^[7]利用HS-SPME-GC/MS联用技术分析了8种典型宁红茶中的香味物质,共鉴定出74种香气组分。

近年来,国内外茶叶市场上因对普洱茶有“越陈越香”的推崇,让很多消费者开始了对陈年茶的追捧,继普洱茶等黑茶之后,乌龙茶、白茶的陈年茶也逐步走入大众视野^[8-10]。张纪伟等^[11]对不同产地及不同年份普洱生茶中香气组分差异进行研究,发现可以通过香气组分差异分析可以区分普洱生茶的产地及贮藏年份;赵阳等^[12]对不同贮藏时间古树普洱生茶香气组分进行分析,结果显示:未经贮藏的普洱生茶为清香型,随着贮藏时间的增加逐渐变为陈香型,主要香气组分己醛、 α -松油醇、4-萜烯醇、脱氢芳樟醇、橙花叔醇等物质含量随贮藏时间延长而上升;1-辛烯-3-醇、顺式芳樟醇氧化物(呋喃)、芳樟醇等物质含量随贮藏时间延长而降低;丁汀等^[13]对不同等级及贮藏时间的白茶中香气组分进行研究,在5个年份白茶中共鉴定出56种香气组分,结果表明随着贮藏时间增加醇类物质主要呈先降低后略有上升趋势,醛类物质前期有所上升,后期逐渐降低。

宁红金毫在贮藏的过程中,香味物质会发生什么变化,目前还没有人研究。本研究以九江市修水县梁天柱茶叶有限公司同一茶叶产地、同一加工工艺生产,相同贮藏条件的宁红金毫,利用顶空固相微萃取技术(HS-SPME),联合气相色谱-质谱(GC/MS)分析技

术,对宁红金毫贮藏0、1、2、3年的香气组分进行分析,研究贮藏时间对宁红金毫香气组分变化规律的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

宁红金毫样品来自江西梁天柱茶叶有限公司,茶鲜叶来源于自有茶园,加工工艺包括萎凋、揉捻、发酵、干燥、精制和提香。分别取当年生产、贮藏1年、贮藏2年和贮藏3年,在同一自然条件下存放的宁红金毫样品,每个样品分别取3份,置于干净无味的-20℃冰箱中。

纯净水,华润怡宝饮料(中国)有限公司;C7-C40饱和烷烃混标, Sigma-Aldrich公司;固相微萃取头SPME 50/30 μm DVB/CAR/PDMS,美国Supelco公司;20 mL顶空螺纹瓶加磁吸式顶空瓶盖,安捷伦;TG-5MS气相色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm),美国Thermo Fisher公司。

C7-C40混标检测,正构烷烃混标质量浓度1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($1\ 000\times 10^{-6}$),用正己烷(色谱级)稀释至10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (10×10^{-6})。手动进样1 μL ,质量浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ C7-C40混标进GC-MS检测,用以计算保留指数。

1.2 样品处理

所有样品,磨碎,过40目筛,精确称取1.5 g茶粉末样品,置入20 mL样品瓶,加4.5 mL水(加入 $m=30\%$ 氯化钠)。

1.3 固相微萃取条件

SPME条件:60℃,平衡30 min,平衡完成,插入已老化(或已解吸附)的纤维萃取头,于茶样上方顶空吸附(萃取温度60℃,萃取时间60 min),后将萃取头进样解析(解析时间5 min,250℃)。

1.4 GC-MS检测条件

TSQ8000Evo气相色谱-三重四极杆质谱联用仪,美国Thermo Fisher公司;TriPlus RSH三合一自动进样器,美国Thermo Fisher公司;SPME 50/30 μm DVB/CAR/PDMS固相微萃取头,美国Supelco公司;TG-5MS气相色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm),美国

Thermo Fisher 公司; 20 mL 顶空螺纹瓶加磁吸式顶空瓶盖, 安捷伦。

载气为高纯氮气(纯度不小于 99.999%), 恒流流速 1.0 mL/min, 质谱接口温度 280 °C, 不分流进样, 质谱条件: 电子轰击离子源(EI) 温度 300 °C。电子能量 70 eV; 质谱扫描范围: m/z 33~550 u。

程序升温条件: 40 °C (保持 2 min), 5 °C/min, 85 °C (保持 2 min), 2 °C/min, 110 °C (保持 2 min), 4 °C/min, 220 °C (保持 2 min), 5 °C/min, 250 °C (保持 10 min)。

1.5 香气组分定性定量方法

将采集到的总离子流图进行积分, 得到的组分在 NIST2014 质谱库中进行检索, 筛选出 RSI 大于 800 的化合物。同时计算化合物的保留指数 RI, 并检索文献中该化合物的保留指数, 进行对比, 从而对该化合物定性。

保留指数计算公式:

$$RI_x = 100 \times z + 100 \times \frac{RT_x - RT_z}{RT_{z+1} - RT_z} \quad (1)$$

式中:

RI_x ——化合物 x 的保留指数 (x 在正构烷烃 z 和 $z+1$ 之间馏出);

RT_x ——化合物 x 的保留时间;

RT_z ——碳数为 z 的正构烷烃的保留时间;

RT_{z+1} ——碳数为 $z+1$ 的正构烷烃保留时间。

香气成分的相对含量采用峰面积归一法计算。

1.6 数据处理及绘图方法

使用 IBM Statistics SPSS 23.0 软件对数据进行统计分析。热图分析采用 TBtools 绘制, 主成分分析采用 SIMCA-P 14.1 (Umetrics, Umea, Sweden) 绘制前对数据标准化处理。

2 结果与讨论

2.1 贮藏期间香气成分总离子流图

宁红金毫经 GC-MS 检测, 得到宁红金毫总离子流色谱图, 如图 1 所示, 本实验采用的方法可以有效分离检测宁红金毫香气组分。本实验共检测出 217 种香气组分。香气组分总离子流图结果显示, 不同贮藏年份的宁红金毫总离子流图有差异, 相同年份的香气总离子流图结果更加相似。

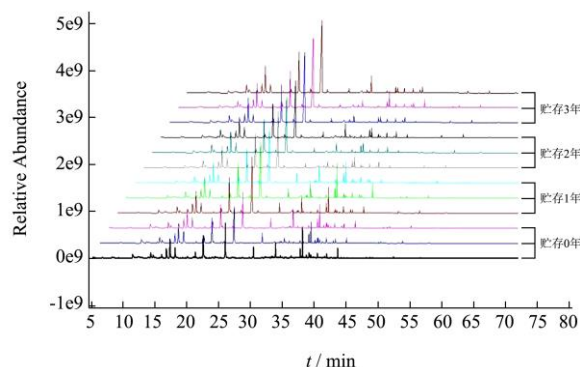


图 1 不同贮藏年份宁红金毫香气组分总离子流色谱对比图

Fig.1 Total ion chromatogram of aroma components of Ninghong pekoe in different storage years

2.2 宁红金毫香气成分定性分析

由表 1 可知, 从不同贮藏年份的宁红金毫中共鉴定出 81 中香气组分, 包括醇类物质 16 种, 醛类物质 12 种, 酮类物质 9 种, 酯类、内酯类物质 18 种, 碳氢类物质 21 种, 酚类物质 2 种, 酸类物质 1 种, 其他类物质 2 种。Lv 等^[5]利用 HS-SPME-GC/MS 技术检测分析普洱茶和茯砖茶共检测鉴定出 93 种香气组分。刘焯等^[14]在对不同产地庐山云雾香气组分进行测定, 共鉴定 76 种香气组分, 包括烯烃类、烷烃类、醇类、醛类、酮类、酯类等。丁汀等^[13]分析检测不同年份的白茶, 检测出 56 种香气组分, 其中醇类 12 种、醛类 9 种、酯类 6 种、酸类 2 种、碳氢化合物 16 种, 其他 3 种。与前人研究结果相比, 检测香气组分有所差别, 主要是检测不同种类的茶造成的。

表 1 不同贮藏年份宁红金毫香气组分定性及相对含量分析结果

Table 1 Qualitative analysis of aroma components of Ninghong pekoe in different storage years

序号	成分	成分(英文)	RT	SI	RSI	RIa	RIb	贮藏0年	贮藏1年	贮藏2年	贮藏3年
1	己醛	Hexanal	6.66	737	837	808	807	0.13±0.01	0.14±0.02	0.17±0.01	0.19±0.02
2	2-己烯醛	(E)-2-Hexenal	8.21	856	902	861	861	-	-	-	0.77±0.01
3	3-己烯-1-醇	3-Hexen-1-ol	8.2	814	860	861	858	0.94±0.03	0.74±0.01	0.76±0.02	-
4	苯乙烯	Styrene	9.27	815	887	897	898	0.07±0.01	0.08±0.02	0.09±0.01	0.14±0.02
5	苯甲醛	Benzaldehyde	11.48	910	919	964	966	1.43±0.06	1.83±0.03	1.79±0.06	2.94±0.10
6	甲基庚烯酮	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	12.31	844	900	989	991	-	-	-	0.47±0.03
7	苯甲醇	Benzyl alcoho	14.33	891	919	1 037	1 035	3.13±0.03	3.86±0.14	2.91±0.10	3.05±0.17
8	苯乙醛	Phenylacetaldehyde	14.75	874	900	1 046	1 046	1.44±0.07	1.52±0.02	1.04±0.03	1.72±0.07
9	2-乙酰基吡咯	Methyl pyrrol-2-yl ketone	15.6	861	892	1 064	1 063	-	0.05±0.01	0.03±0.01	0.16±0.01
10	2-呋喃甲醇	2-Furanmethanol	16	928	930	1 072	1 074	1.19±0.04	1.02±0.02	1.29±0.04	1.69±0.08
11	反式氧化芳樟醇(呋喃类)	(E)-Linalol oxide (furanoid)	16.76	928	937	1 089	1 085	2.74±0.08	2.44±0.06	3.08±0.10	3.9±0.22
12	芳樟醇	Linalool	17.35	944	944	1 102	1 104	7.64±0.22	7.43±0.24	6.9±0.16	7.21±0.25
13	壬醛	Nonanal	17.52	830	837	1 106	1 107	0.49±0.03	0.43±0.02	0.45±0.01	-
14	苯乙醇	Phenylethyl Alcohol	18.13	936	943	1 116	1 116	2.96±0.07	4±0.08	3.61±0.16	4.61±0.41
15	N-乙基琥珀酰亚胺	2,5-Pyrrolidinedione, 1-ethyl-	19.29	832	859	1 138	NA	-	0.13±0.02	0.19±0.01	0.31±0.02
16	2-甲基十一烷	2-Methylundecane	20.55	868	879	1 161	1 164	0.05±0.00	-	-	-
17	3-甲基十一烷	3-Methylundecane	20.93	845	870	1 169	1 171	0.07±0.01	-	-	-
18	顺式氧化芳樟醇(吡喃类)	(Z)-Linalool oxide (pyranoid)	21.07	919	925	1 171	1 173	-	-	0.63±0.03	0.82±0.04
19	反式氧化芳樟醇(吡喃类)	(E)-Linalool oxide (pyranoid)	21.34	929	936	1 176	1 173	1.02±0.04	1.27±0.03	1.61±0.06	2.23±0.14
20	己-3-烯基丁酸酯	(E)-3-Hexenyl butyrate	21.95	624	852	1 187	1 185	0.22±0.01	0.18±0.01	0.17±0.01	-
21	2,6-二甲基-3,7-辛二烯-2,6-二醇	(E)-2,6-Dimethylocta-3,7-diene-2,6-diol	22.17	836	945	1 191	1 191	-	-	-	0.04±0.01
22	α-松油醇	α-Terpineol	22.3	873	895	1 194	1 192	0.19±0.01	0.24±0.01	0.32±0.01	0.37±0.02
23	水杨酸甲酯	Methyl salicylate	22.53	938	940	1 200	1 201	11.72±0.30	12.62±0.06	11.57±0.18	9.6±0.39
24	癸醛	Decanal	23.04	851	864	1 207	1 207	0.06±0.01	0.09±0.01	0.07±0.01	-
25	β-环柠檬醛	β-Cyclocitral	24.03	801	855	1 223	1 223	0.35±0.01	0.45±0.01	0.48±0.01	0.55±0.01
26	橙花醇	Nerol	24.42	926	929	1 229	1 229	1.03±0.04	1.04±0.01	0.9±0.03	0.78±0.02
27	戊酸叶醇酯	(Z)-3-Hexenyl valerate	24.57	854	868	1 232	1 236	0.47±0.01	0.31±0.02	0.28±0.02	0.3±0.02
28	反-2-己烯基异戊酸酯	(E)-2-Hexenyl isovalerate	24.93	723	806	1 238	1 245	0.23±0.00	0.19±0.01	0.13±0.01	0.12±0.00
29	β-柠檬醛	β-Citral	25.17	848	859	1 242	1 242	0.2±0.06	0.14±0.01	0.13±0.01	-
30	香叶醇	Geraniol	26.11	957	957	1 254	1 253	36.24±0.88	28.98±0.20	25.27±0.48	15.07±0.40

续表 1

序号	成分	成分 (英文)	RT	SI	RSI	RIa	RIb	贮藏 0 年	贮藏 1 年	贮藏 2 年	贮藏 3 年
31	3-甲基十二烷	Dodecane, 3-methyl-	26.76	832	861	1 268	1 270	0.07±0.00	0.07±0.01	0.03±0.01	-
32	橙花醛	α -Citral	27.01	888	896	1 272	1 269	0.89±0.01	0.81±0.02	0.66±0.02	0.43±0.01
33	α -亚乙基-苯乙醛	α -Ethylidenbenzeneacetaldehyde	27.2	813	834	1 275	1 274	0.34±0.01	0.35±0.00	0.26±0.00	0.23±0.01
34	壬酸乙酯	Nonanoic acid, ethyl ester	28.61	842	876	1 297	1 294	0.07±0.00	0.11±0.01	-	-
35	茶香螺烷	Theaspirane	28.75	857	867	1 300	1 302	-	0.18±0.01	-	-
36	甲酸香叶酯	Geranyl formate	29.01	879	879	1 304	1 300	0.15±0.01	0.09±0.01	0.08±0.00	-
37	香叶酸甲酯	Methyl geranate	30.29	866	889	1 329	1 326	0.46±0.01	0.51±0.01	0.41±0.02	0.45±0.02
38	α -萜澄茄油烯	α -Cubebene	31.63	924	938	1 354	1 351	0.13±0.01	0.11±0.00	0.07±0.01	0.08±0.02
39	1,1,5-三甲基-1,2-二氢萘	1,1,5-Trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene	31.83	914	947	1 358	NA	0.06±0.00	0.09±0.01	0.11±0.01	0.17±0.01
40	香叶酸	Geranic acid	32.46	903	923	1 370	1 372	1.73±0.21	1.7±0.02	1.65±0.04	1.17±0.05
41	4-甲基-2-苯基-2-戊烯醛	4-Methyl-2-phenyl-2-pentenal	32.96	825	843	1 380	1 383	0.16±0.00	0.24±0.01	0.16±0.01	0.23±0.01
42	己酸叶醇酯	3-hexenyl ester	33.23	896	903	1 385	1 386	0.51±0.03	0.3±0.03	0.54±0.02	0.49±0.02
43	乙酸香叶酯	Geranyl acetate	33.37	923	926	1 387	1 385	0.16±0.01	0.31±0.01	0.48±0.01	-
44	β -榄香烯	β -Elemen	33.74	822	856	1 394	1 394	-	0.09±0.02	-	0.12±0.01
45	茉莉酮	3-methyl-2-pent-2-enylcyclopent-2-enone	34.15	909	909	1 403	1 400	0.2±0.01	0.19±0.01	0.34±0.01	0.32±0.02
46	长叶烯	Longifolene	34.37	805	891	1 408	1 404	0.17±0.00	0.18±0.01	0.15±0.01	0.22±0.00
47	雪松烯	Cedrene	34.67	807	895	1 416	1 422	0.08±0.01	0.71±0.05	0.29±0.02	0.67±0.03
48	β -雪松烯	β -Cedrene	35.03	820	865	1 424	1 424	-	0.29±0.01	0.14±0.01	0.33±0.01
49	α -紫罗兰酮	α -Ionone	35.37	851	858	1 433	1 433	0.09±0.00	0.17±0.00	0.24±0.01	0.33±0.01
50	香叶基丙酮	Geranyl acetone	36.37	848	860	1 457	1 458	0.35±0.01	0.7±0.01	0.72±0.02	0.62±0.02
51	金合欢烯	β -Farnesene	36.5	906	912	1 460	1 460	0.03±0.00	-	-	-
52	2,6,10-三甲基十三烷	2,6,10-Trimethyltridecane	36.62	815	920	1 463	1 465	0.14±0.01	0.12±0.00	0.11±0.01	-
53	2,5-环己二烯-1-酮	2,5-Cyclohexadien-1-one	37.14	861	925	1 475	1 478	-	-	-	0.16±0.01
54	杜松-1(6),4-二烯	Cadina-1(6),4-diene	37.23	848	935	1 478	1 481	0.08±0.01	0.07±0.01	0.11±0.01	0.1±0.00
55	γ -依兰油烯	γ -Muurolene	37.35	855	877	1 481	1 481	-	0.02±0.00	0.02±0.01	0.04±0.00
56	脱氢- β -紫罗兰酮	3,4-Dehydro- β -ionone	37.64	847	873	1 487	1 485	0.02±0.01	0.08±0.00	0.12±0.01	0.22±0.01
57	β -紫罗兰酮	β -Ionone	37.75	883	887	1 491	1 488	0.97±0.03	1.53±0.03	1.89±0.02	2.18±0.06
58	可卡醛	2-Phenyl-5-methyl-2-hexenal	37.91	824	852	1 493	1 488	0.39±0.02	0.42±0.02	0.3±0.02	0.37±0.02
59	α -依兰油烯	α -Muurolene	38.27	903	918	1 504	1 504	0.06±0.02	0.04±0.00	0.07±0.01	0.12±0.00
60	α -金合欢烯	α -Farnesene	38.49	815	853	1 510	1 511	0.09±0.02	-	-	-
61	2,6-二叔丁基对甲基苯酚	Butylated Hydroxytoluene	38.71	909	913	1 515	1 517	-	-	0.1±0.01	0.71±0.02

续表 1

序号	成分	成分 (英文)	RT	SI	RSI	RIa	RIb	贮藏 0 年	贮藏 1 年	贮藏 2 年	贮藏 3 年
62	δ -杜松烯	δ -Cadinene	39.13	802	827	1 531	1 532	0.68 \pm 0.04	0.65 \pm 0.02	0.76 \pm 0.05	1.14 \pm 0.01
63	二氢猕猴桃内酯	Dihydroactinidiolide	39.44	845	873	1 536	1 535	-	0.36 \pm 0.01	0.53 \pm 0.01	0.89 \pm 0.05
64	α -二去氢菖蒲烯	α -Calacorene	39.85	910	952	1 553	1 550	0.09 \pm 0.01	0.12 \pm 0.01	0.23 \pm 0.01	0.36 \pm 0.01
65	α -橙花叔醇	α -Nerolidol	40.46	951	957	1 566	1 565	0.67 \pm 0.03	0.94 \pm 0.03	1.19 \pm 0.032	1.28 \pm 0.04
66	苯甲酸叶醇酯	Benzoic acid cis-3-hexenyl ester	40.77	850	867	1 582	1 580	0.1 \pm 0.01	0.12 \pm 0.02	0.09 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01
67	2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯	Kodaflex txib	41.57	866	891	1 600	1 588	0.52 \pm 0.02	0.57 \pm 0.03	0.73 \pm 0.02	0.59 \pm 0.01
68	2,4,6-三叔丁基苯酚	Phenol, 2,4,6-tri-tert-butyl-	41.9	845	856	1 609	NA	0.83 \pm 0.02	1.15 \pm 0.05	0.51 \pm 0.01	0.89 \pm 0.02
69	立方醇	Di-epi-1,10-cubenol	42.71	912	936	1 636	1 636	0.05 \pm 0.01	0.06 \pm 0.00	0.09 \pm 0.00	0.16 \pm 0.01
70	τ -依兰醇	τ -Muurolol	43.16	857	863	1 651	1 651	0.06 \pm 0.01	0.08 \pm 0.00	0.14 \pm 0.00	0.17 \pm 0.01
71	4-异丙基-1,6-二甲基萘	Cadalene	44.17	822	846	1 685	1 684	0.02 \pm 0.01	0.04 \pm 0.00	0.05 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01
72	肉豆蔻酸乙酯	Tetradecanoic acid, ethyl ester	47.32	815	842	1 795	1 795	0.02 \pm 0.00	0.04 \pm 0.01	0.02 \pm 0.02	0.02 \pm 0.01
73	新植二烯	Neophytadiene	48.48	898	943	1 839	1 840	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01
74	植酮	Perhydrofarnesyl acetone	48.69	811	882	1 847	1 848	0.02 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	0.19 \pm 0.02
75	咖啡因	Caffeine	49.05	930	932	1 860	1 842	0.44 \pm 0.03	0.46 \pm 0.13	0.4 \pm 0.02	0.41 \pm 0.06
76	棕榈酸甲酯	Hexadecanoic acid, methyl ester	50.75	810	848	1 927	1 927	0.08 \pm 0.02	0.05 \pm 0.00	0.05 \pm 0.00	0.03 \pm 0.01
77	邻苯二甲酸二丁酯	Dibutyl phthalate	51.82	894	935	1 971	1 970	0.01 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01
78	棕榈酸乙酯	Hexadecanoic acid, ethyl ester	52.42	905	906	1 995	1 996	0.38 \pm 0.03	0.58 \pm 0.07	0.43 \pm 0.02	0.43 \pm 0.10
79	植物醇	Phytol	55.24	868	901	2 114	2 116	0.04 \pm 0.02	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01
80	亚油酸乙酯	Ethyl octadec-9,12-dienoate	56.42	845	863	2 162	NA	0.05 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.08 \pm 0.02
81	亚麻酸乙酯	Linolenic acid, ethyl ester	56.6	851	854	2 170	2 173	0.12 \pm 0.01	0.2 \pm 0.0	0.16 \pm 0.02	0.15 \pm 0.03

注: RT 表示保留时间; SI 表示该化合物的 MS 谱图与 NIST2014 质谱库的标准谱图比较得到的相似度; RSI 表示 NIST2014 质谱库中标准谱图与该化合物反相比较得到的相似度; RIa 表示通过计算所得保留指数; RIb 表示查阅数据库 Andriamaharavo, N.R., Retention Data. NIST Mass Spectrometry Data Center., NIST Mass Spectrometry Data Center, 2014 及参考文献中的保留指数。NA 表示未检索到保留指数; “-”表示未检测到该化合物。

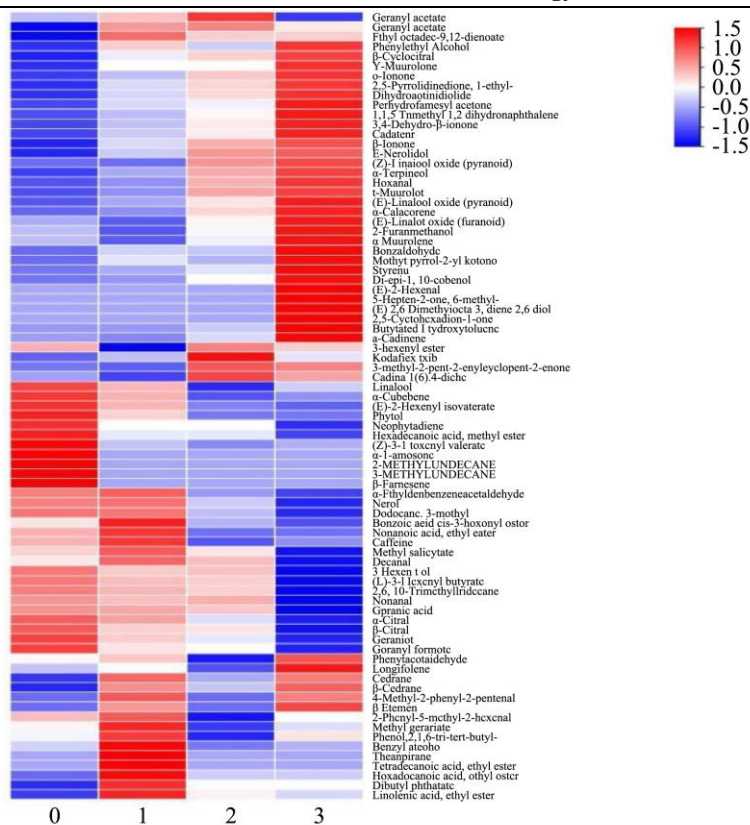


图2 香气组分在不同贮藏年份的热图分析

Fig.2 Heatmap analysis of aroma components of Ninghong pekoe in different storage years

注：0为贮藏0年；1为贮藏1年；2为贮藏2年；3为贮藏3年；色块颜色代表该物质相对含量，蓝色色块表示相对含量低，红色色块表示相对含量高。

2.3 贮藏期间组分相对含量变化热图分析

TBtools 是一款用于高通量数据分析的小工具^[15]，利用 TBtools 绘制热图（图2），可以直观的比较香气组分含量的变化，如图2所示：色阶颜色从蓝到红的变化代表了相对含量从低到高，可以观察到，随着贮藏年份的增加，一部分香气组分的相对含量在增加，主要是酮类、醇类物质等，有 α -紫罗兰酮、脱氢- β -紫罗兰酮、 β -紫罗兰酮、植酮、苯乙醇、 α -橙花叔醇、顺式氧化芳樟醇（吡喃类）、 α -松油醇、 τ -依兰醇、反式氧化芳樟醇（吡喃类）、 β -环柠檬醛、己醛、 α -依兰油烯、乙基琥珀酰亚胺、1,1,5-三甲基-1,2-二氢萘、4-异丙基-1,6-二甲基萘、二氢猕猴桃内酯等；随着贮藏时间的增加，易挥发的碳氢化合物、易被氧化的酯类相对含量在减少，如：反-2-己烯基异戊酸酯、棕榈酸甲酯、戊酸叶醇酯、苯甲酸叶醇酯、壬酸乙酯、植物醇、新植二烯、芳樟醇、 α -荜澄茄油烯、 α -金合欢烯、金合欢烯、2-甲基十一烷、3-甲基十一烷、3-甲基十二烷、 α -亚乙基-苯乙醛、橙花醇等，还有一部分香气组分呈先升高再降低的变化，主要是碳氢化合物等，如：雪松烯、 β -雪松烯、 β -榄香烯、4-甲基-2-苯基-2-戊烯

醛、可卡醛、苯甲醇等。

2.4 贮藏期间香气变化主成分分析

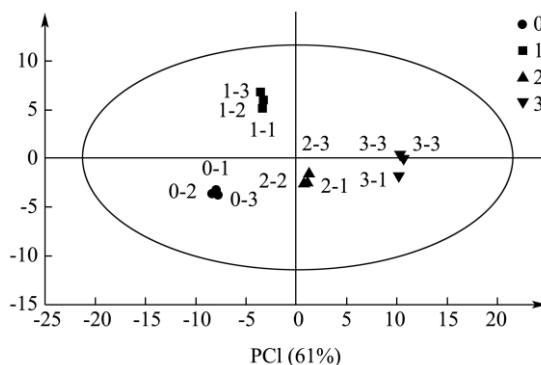


图3 不同贮藏年份宁红金毫香气组分的 PCA 分析图

Fig.3 PCA analysis of aroma components of Ninghong pekoe in different storage years

注：圆形代表宁红金毫贮藏0年样品；正方形代表宁红金毫贮藏1年样品；三角形代表宁红金毫贮藏2年样品；倒三角形代表宁红金毫贮藏3年样品。

PCA 是一种无监督模式识别的多维数据统计分析方法，通过每个样本点在得分图上的位置来显示样本的分类信息，因此分类结果更加客观^[16]。本研究基

于不同贮藏年份宁红金毫香气组分的相对含量构建 PCA 模型 (拟合参数为 $R^2X=0.92$ 、 $Q^2=0.86$)，如图 3 所示，贮藏 0 年位于左下部分，贮藏 1 年位于左上部分，贮藏 2 年的位于右下靠中心部分，贮藏 3 年的在右边部分，由此可见主成分分析方法对不同贮藏年份的宁红金毫有较好的区分效果，说明不同年份宁红金毫香气组分的相对含量有一定的区别。

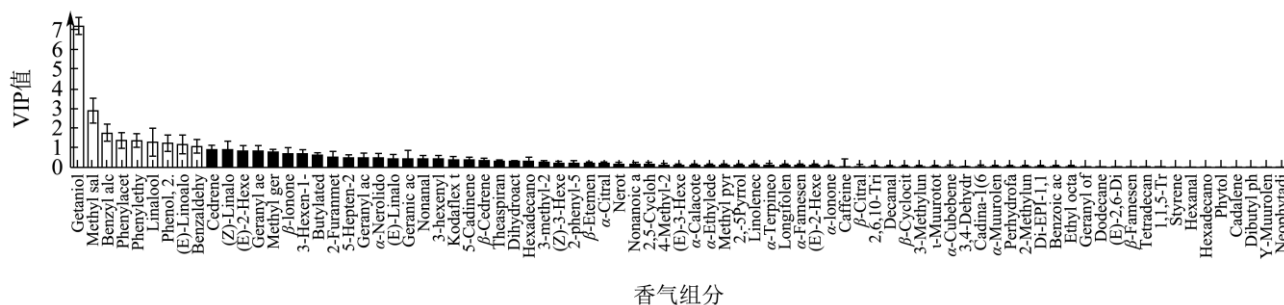
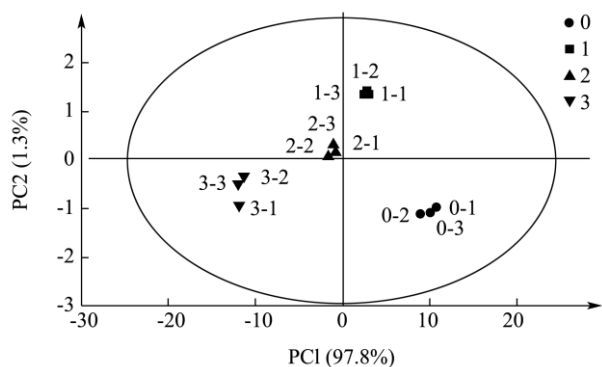


图 5 不同贮藏年份宁红金毫香气组分 PLS-DA 模型的 VIP 得分图

Fig.5 VIP score diagram of PLS-DA model of aroma components of Ninghong pekoe in different storage years

表 2 不同贮藏年份宁红金毫香气组分差异关键物质

Table 2 Key substances for different aroma components of Ninghong Pekoe in different storage years

序列	香气成分名称	VIP	P 值	香气描述
1	Geraniol 香叶醇	5.1	0.00	玫瑰花香、果香
2	Methyl salicylate 水杨酸甲酯	3.9	0.00	杏仁香、焦糖香
3	Benzyl alcohol 苯甲醇	2.4	0.00	玫瑰花香、烘烤香
4	Phenylacetaldehyde 苯乙醛	1.9	0.00	蜜香、
5	Phenylethyl Alcohol 苯乙醇	1.8	0.00	蜜香、玫瑰花香、果香
6	Linalool 芳樟醇	1.8	0.02	花香
7	2,4,6-tri-tert-butyl-phenol 2,4,6-三叔丁基苯酚	1.8	0.00	-
8	(E)-Linalol oxide (furanoid) 反式氧化芳樟醇 (呋喃类)	1.7	0.00	花香
9	Benzaldehyde 苯甲醛	1.4	0.00	苦杏仁香、焦糖香
10	Cedrene 雪松烯	1.3	0.00	-
11	(Z)-Linalool oxide (pyranoid) 顺式氧化芳樟醇 (吡喃类)	1.3	0.00	花香
12	Geranyl acetate 乙酸香叶酯	1.2	0.00	玫瑰花香、薰衣草香
13	(E)-2-Hexenal 2-己烯醛	1.2	0.00	青气
14	Methyl geranate 香叶酸甲酯	1.1	0.00	花香、果香

注：香气描述特性参考 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>、<http://www.flavornet.org/>网站。

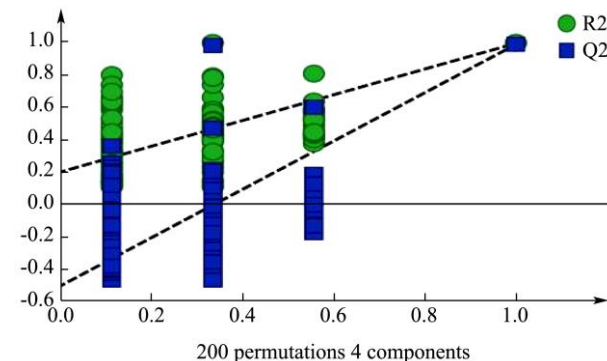


图 4 不同贮藏年份宁红金毫香气组分 PLS-DA 模型及其验证模型

Fig.4 PLS-DA and cross-validation analysis of aroma components of Ninghong pekoe in different storage years

注：圆形代表宁红金毫当年样品；正方形代表宁红金毫贮藏 1 年样品；三角形代表宁红金毫贮藏 2 年样品；倒三角形代表宁红金毫贮藏 3 年样品。

PLS-DA 是一种有监督的判别分析方法, 一般用于两组及两组以上组别的对比, 寻找差异代谢物^[11]。基于不同贮藏年份的宁红金毫香气组分建立 PLS-DA 模型 (拟合参数为 $R^2X=0.999$, $R^2Y=0.995$, $Q^2=0.99$), 说明该模型具有强的累积解释度和预测能力, 且稳定性良好。利用置换检验的方法进行 200 次交叉验证 ($R^2=0.2$, $Q^2=-0.51$), Q^2 负值说明所建 PLS-DA 模型可靠, 没有出现拟合现象。VIP 值可以量化 PLS-DA 模型中香气组分对分类的贡献大小, 在判别过程中一般认为 $VIP>1$, $P<0.05$ 表示该组分在贮藏不同年份的差异具有统计学意义^[17], 可以作为不同贮藏年份宁红金毫变化的关键性成分。VIP 值越大, 说明该组分在不同宁红金毫贮藏年份中的差异越显著。如图 5 所示, 红色柱显示 $VIP>1$ 的香气组分。

由表 2 可知, 不同贮藏年份宁红金毫变化的关键性成分 (图 5 中, VIP 值 >1 , $P<0.05$ 的香气组分) 有: 香叶醇、水杨酸甲酯、苯甲醇、苯乙醛、苯乙醇、芳樟醇、2,4,6-三叔丁基苯酚、反式氧化芳樟醇 (呋喃类)、苯甲醛、雪松烯、顺式氧化芳樟醇 (吡喃类)、乙酸香叶酯、2-己烯醛、香叶酸甲酯。

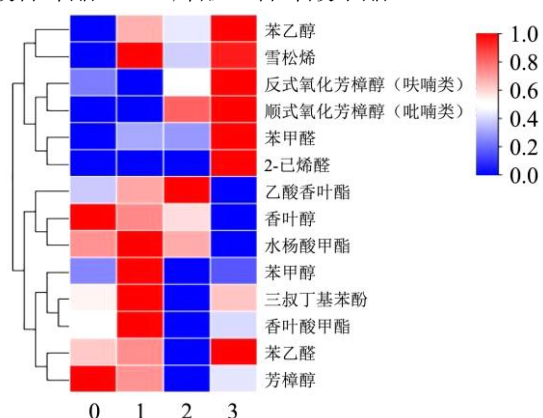


图 6 14 种关键香气组分在宁红金毫不同贮藏年份的热图分析

Fig.6 Heatmap analysis of 14 key aroma components of Ninghong pekoe in different storage years

注: 0 为贮藏 0 年; 1 为贮藏 1 年; 2 为贮藏 2 年; 3 为贮藏 3 年; 色块颜色代表该物质相对含量, 蓝色色块表示相对含量低, 红色色块表示相对含量高。

这些变化的关键性香气组分的香气特征也不尽相同, 主要表现为花香、果香、蜜香、焦糖香及青草气。

由图 6 可知, 随着贮藏时间的增加: 苯乙醇、雪松烯、反式氧化芳樟醇 (呋喃类)、顺式氧化芳樟醇 (吡喃类)、苯甲醛、2-己烯醛这些香气组分含量也在增加; 乙酸香叶酯、香叶醇、水杨酸甲酯这些香气组分含量在降低; 苯甲醇、2,4,6-三叔丁基苯酚、香叶酸甲酯这些组分先升高再降低的趋势; 苯乙醛、芳樟醇呈降低再升高趋势。香气组分含量增高及减弱的物质主要香

型表现为: 蜜香、果香增强, 花香减弱, 这与普遍的感官评审中结果相似, 随着贮藏年份增加, 宁红金毫花香在逐渐减弱。

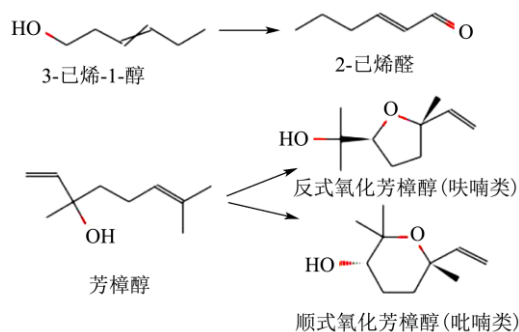


图 7 宁红金毫香气组分变化图

Fig.7 Changes of aroma components of Ninghong pekoe

如图 7 所示, 有意思的是在贮藏 0、1、2 年的样品中检测鉴定的香气组分是 3-己烯-1-醇, 而贮藏 3 年的样品中检测鉴定是 2-己烯醛, 是否是随着贮藏时间的增加, 3-己烯-1-醇被氧化成 2-己烯醛, 这个还需要进一步进行验证; 另外, 随着贮藏时间的增加, 芳樟醇的相对含量在降低, 而反式氧化芳樟醇 (呋喃类)、顺式氧化芳樟醇 (吡喃类) 相对含量在增加, 芳樟醇是否被氧化为氧化芳樟醇, 具体氧化机理有待进一步的研究。

另外宁红金毫在储藏过程中香气组分的变化, 除储藏时间之外还与储藏环境有密切关系, 有研究表明贮藏条件对茶的香气有显著影响^[18]。贮藏环境条件对宁红金毫香气组分的影响, 需要进一步进行研究。这些宁红金毫香气组分的变化为后期研究相关内容可以提供借鉴, 也可为今后宁红金毫生产加工及贮藏提供参考。

3 结论

本研究以同一茶叶产地、同一加工工艺, 相同贮藏条件的宁红金毫, 用 HS-SPME-GC/MS 联用分析技术, 对宁红金毫贮藏 0 年、1 年、2 年、3 年的香气组分进行分析, 结果表明相同年份的香气总离子流图结果更加相似, 共检测出 217 种香气组分, 经保留指数及 MS 对比鉴定出 81 中香气组分。PCA、PLS-DA 分析结果显示, 通过香气组分含量变化可以区分不同贮藏年份的宁红金毫。香叶醇、水杨酸甲酯、反式氧化芳樟醇 (呋喃类)、顺式氧化芳樟醇 (吡喃类)、苯甲醇、苯乙醛、苯乙醇、苯甲醛、雪松烯、香叶酸甲酯、芳樟醇、2,4,6-三叔丁基苯酚、乙酸香叶酯、2-己烯醛这 14 种香气组分含量变化, 是不同贮藏年份宁红金毫的关键香气组分。

随着贮藏时间的增加: 苯乙醇、雪松烯、反式氧

化芳樟醇(呋喃类)、顺式氧化芳樟醇(吡喃类)、苯甲醛、2-己烯醛这些香气组分含量在增加;乙酸香叶酯、香叶醇、水杨酸甲酯这些香气组分含量在降低;苯甲醇、2,4,6-三叔丁基苯酚、香叶酸甲酯这些组分先升高再降低的趋势;苯乙醛、芳樟醇呈降低再升高趋势。香气组分含量增高及减弱的物质主要香型表现为:蜜香、果香增强,花香减弱。

参考文献

- [1] 匡芳芳.江西宁红茶区域品牌战略研究[D].南昌:江西师范大学,2020.
- [2] 黄国滋,赖兆祥,赵超艺,等.金毫名茶采制工艺关键技术[J].广东农业科学,2008,10:90-91.
- [3] 陈罗君,张冬燕,荣骅,等.修水县宁红金毫加工技术[J].中国茶叶,2016,38(9):24.
- [4] 舒心,高彦祥.茶叶挥发性成分提取及其香气特征分析研究进展[J].食品工业科技,2022,43(15):469-480.
- [5] Lv S, Wu Y, Li C, 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.
- [6] 冯花,王飞权,张渤,等.不同茶树品种白牡丹茶香气成分的HS-SPME-GC-MS分析[J].现代食品科技,2021,37(12):252-264,251.
- [7] 岳翠男,秦丹丹,蔡海兰,等.QDA和GC-MS结合PLSR分析宁红茶中的风味物质[J].食品与发酵工业,2021,47(7):225-231.
- [8] Tao M, Xiao Z, Huang A, et al. Effect of 1-20 years storage on volatiles and aroma of Keemun congou black tea by solvent extraction-solid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. LWT, 2020, 136(2).
- [9] 石玉涛,郑淑琳,李小燕,等.贮藏时间对武夷岩茶品质成分和抗氧化活性的影响[J].食品科技,2020,45(6):46-51.
- [10] F Y Fan, C S Huang, Y L Tong, et al. Widely targeted metabolomics analysis of white peony teas with different storage time and association with sensory attributes [J]. Food Chemistry, 2021, 362(2): 130257.
- [11] 张纪伟,沈雪梅,张钊,等.不同产地和贮存年份普洱生茶香气和呈味物质变化的比较研究[J].食品研究与开发,2021,42(9):11-18.
- [12] 赵阳,龚加顺,王秋萍.古树普洱茶生茶贮藏过程中香气成分的变化[J].食品科学,2022,43(4):241-248.
- [13] 丁玎,宁井铭,张正竹,等.不同等级和储藏时间白茶香气组分差异性研究[J].安徽农业大学学报,2016,43(3):337-344.
- [14] 刘晔,葛丽琴,王远兴.庐山云雾茶挥发性成分主成分分析及产地判别[J].食品科学,2017,38(24):60-67.
- [15] Chengjie Chen, Hao Chen, Yi Zhang, et al. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [16] 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,2010,31(9):1606-1610.
- [17] 张乐,张雅,史冠莹,等.GC-IMS结合化学计量学分析8个产区香椿挥发性成分差异[J].食品科学,2022,43(22):301-308.
- [18] S Xu, X Zeng, H Wu, et al. Characterizing volatile metabolites in raw pu'er tea stored in wet-hot or dry-cold environments by performing metabolomic analysis and using the molecular sensory science approach [J]. Food Chemistry, 2021, 350: 129186.