

基于化学计量学分析堆青时间对白茶香气的影响

陈维¹, 曾斌¹, 苗爱清¹, 王雯雯², 祁丹丹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: 堆青是一种有利于茶叶香气转化的手段, 本文研究了堆青时间对白茶香气的影响, 并分析了感官香气与化合物变化间的联系。感官审评结果表明, 堆青使白茶甜香增强而鲜度下降。通过顶空固相微萃取和气相色谱-串联质谱联仪从样品中表征出 55 种化合物, 它们的组成受堆青影响甚微, 但含量变化显著。基于化学计量学方法筛选并分析 37 种差异化合物; 主成分分析和层次聚类分析均可区分不同堆青处理的样品, 其中堆青前后样品间差异明显。苯乙醇、苯甲醛和苯乙醛等随堆青的总体上升, 以及 β -环柠檬醛、反-2-辛烯醛和 α -紫罗兰酮在堆青后含量的普遍增加, 可能是引起甜香增强的原因。而正己醇、反,反-2,4-己二烯醛和辛醛在堆青后含量的普遍减少, 则可能与鲜度下降相关。32 h 的堆青较有利于白茶香气的发展。化学计量学方法的引入使得样品间差异信息的获取更有效率。

关键词: 茶; 堆青; 香气化合物; 气味; 顶空固相微萃取; 气相色谱-串联质谱; 化学计量学

文章编号: 1673-9078(2018)05-242-250

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.05.035

Effect of Pile-up Processing Duration on the White Tea Aroma Analyzed by Chemometrics Approaches

CHEN Wei¹, ZENG Bin¹, MIAO Ai-qing¹, WANG Wen-wen², QI Dan-dan¹, PANG Shi¹, MA Cheng-ying¹

(1. Tea Research Institute & Guangdong Key Laboratory of Tea Plant Resources Innovation and Utilization, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China) (2. Agilent Technologies (China) Co. Ltd., Beijing 100102, China)

Abstract: Pile-up is a tea manufacture process, which is beneficial to the transformation of tea aroma. In this study, the effect of pile-up processing duration on the white tea aroma was investigated, and the relationship between sensory aroma and the changes of volatile organic compounds (VOCs) along different durations was analyzed. The sensory evaluation results indicated that pile-up treatment could improve sweetness of white tea, but decreased freshness. A total of 55 VOCs were characterized through headspace-solid phase micro-extraction (HS-SPME) coupled with gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (GC/MS/MS). The VOCs profiles showed that pile-up had little effect on the composition changes, but the content changed significantly. Chemometric approaches were applied to select and analyze the 37 differential VOCs patterns in white tea. The results showed that all samples of different pile-up treatments were distinguished based on the principle component analysis and hierarchical cluster analysis, of which the difference between samples was obvious before and after pile-up processing. The content of 2-phenylethanol, benzaldehyde, phenylacetaldehyde increased after pile-up treatment, as well as the content of β -cyclocitral, (E)-2-octenal and α -ionone widely increased in post-pile-up samples, which might be the cause of stronger sweetness flavor. However, the content of 1-hexanol, (E,E)-2,4-hexadienal and octanal in post-pile-up samples decreased widely, which might be related to the reduction of freshness. The 32h pile-up was considered as the optimum duration for processing white tea. The introduction of chemometric approaches in VOCs analysis facilitated in revealing the variations and exploring the biochemical patterns among samples.

Key words: tea; pile-up process; volatile organic compounds odors; headspace-solid phase micro-extraction (HS-SPME); gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry; chemometrics

收稿日期: 2017-12-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31500563); 广东省科技计划项目 (2014A020208065); 广东省省级现代农业科技创新联盟建设 (2016LM1093); 2014 年广州市科技计划项目 (2014Y2-00532)

作者简介: 陈维 (1989-), 男, 硕士, 研究实习员, 研究方向: 茶叶加工及品质化学

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

香气是茶叶重要的感官品质,是衡量茶叶商品价值的重要指标。茶叶香气会受到品种^[1,2]、栽培管理^[3,4]和加工技术^[5-7]等多方面因素的影响,其中加工工艺对不同茶类香气的塑造影响关键^[5,8,9]。白茶是六大茶类中工艺最为简单的一种,仅有萎凋和烘干两道工序。传统白茶的香气品质主要形成于萎凋^[10],适当时间的萎凋有助于多种感官香气良好的醇、酯、醛类化合物的积累^[11],这使得成品白茶香气具有鲜嫩、清香的品质特点。

堆青是传统乌龙茶加工中的一道工序,通过将做青后茶青厚堆,起到提高叶温、促进酶活、加快内质转化、缩短杀青前晾青时间的作用。随着制茶工艺的发展,堆青(或堆积)技术也被应用于白茶的加工中,如新工艺白茶^[12]和高 γ -氨基丁酸白茶^[13,14]的制作。堆青工艺的引入,一方面使白茶品质的形成不再单纯依赖于长时间的萎凋,让白茶在萎凋工艺上有更多的选择;另一方面为所制白茶在感官品质上带入新的风格。堆青是一种有利于茶叶香气转化和发展的手段,如在乌龙茶加工中,堆青可让茶叶香气向果香或熟香型转变^[15]。目前,针对堆青工艺方面的报道较少,研究相对浅显,主要集中在乌龙茶上,且多为堆青工艺参数和其对茶叶品质影响方面^[16,17];也有少数关于堆青与不同工艺间香气物质差异的研究^[18]。然而对于经堆青处理的白茶,其香气品质是否会明显的改变或具体变化如何则鲜有报道。作为萎凋工艺的延续和补充,堆青的目的在于进一步促进白茶的物质转化,研究堆青对白茶香气化合物的变化,有助于揭示该工艺对白茶香气品质的影响,为白茶加工工艺的创新提供理论依据。茶叶中香气化合物的种类繁多含量各异,以非靶向形式测定的香气数据不仅通量较大也十分的复杂。化学计量学则较好地应对了从庞杂数据中提取有用信息的问题,因此常被应用于农副产品挥发组分的解析中^[19-22]。英红九号因其嫩梢茸毛多、芽叶粗壮的特点^[23]使该品种具有制作白茶的优势,因此同样有被用于白茶工艺和品质的研究^[11,24]。本文以英红九号为原料加工出不同堆青时间的白茶,通过顶空固相微萃取和气相色谱-串联质谱联用仪,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,分析不同堆青处理对白茶香气组成和含量的影响;同时辅以感官审评判断样品间品质的变化,从而揭示出白茶香气转变的可能原因。

1 材料与方法

1.1 材料和主要仪器设备

1.1.1 实验材料

英红九号茶青原料按“一芽二叶”标准于2016年9月在广东英德采收;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)。

1.1.2 主要仪器设备

KFR-120LW/E (12568L) A1-N2分体热泵型落地式房间空调,珠海格力电器股份有限公司;CF6.8DT工业除湿机,广州东奥电气有限公司;7890B-7000D气相色谱-三重四极杆串联质谱(Gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, GC/MS/MS)联用仪,美国Agilent公司;DB-5MS毛细管色谱柱(60 m \times 0.32 mm, 0.25 μ m),美国Agilent公司;50/30 μ m DVB/CAR/PDMS萃取头,美国Supleco公司。

1.2 实验方法

1.2.1 白茶样品的制备

茶样制备过程中的温湿度通过空调和除湿机控制。将茶青原料均匀铺于萎凋槽上,在环境温湿度分别为24.0 \pm 1.5 $^{\circ}$ C和56.0 \pm 5.0% RH的条件下鼓风萎凋42 h(至茶青含水量为22.5%)。

对萎凋后茶叶进行堆青处理,堆青厚度为60 cm,环境温湿度分别为26.5 \pm 1.5 $^{\circ}$ C和75.0 \pm 5.0%RH。设置不同的堆青时长,分别在0 h(堆青前)、16 h、32 h和48 h时在茶堆中心处取样。所取样品通过四分法缩分至每份约100~200 g,其后在80 $^{\circ}$ C的烘箱内烘2 h至足干。制备的4份不同堆青时间样品(图1)分别用于感官审评和香气组分的测定。

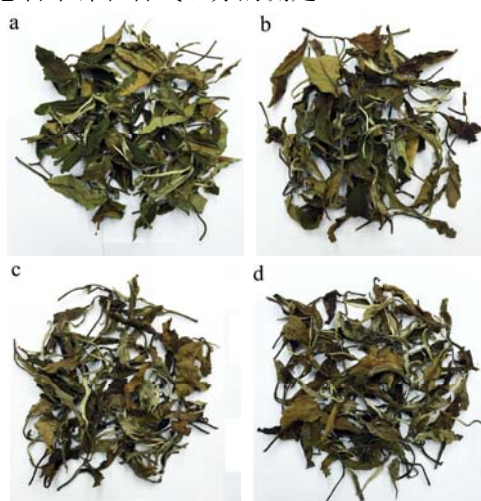


图1 堆青时间为0 h (a)、16 h (b)、32 h (c) 和48 h (d)的白茶样品

Fig.1 The white tea sample before and after pile-up treatment for 16 h, 32 h and 48 h

1.2.2 茶叶感官审评

参照茶叶感官审评方法(GB/T 23776-2009)对白茶样品的香气进行感官审评^[25]。

1.2.3 顶空固相微萃取条件

准确称量 3.0 g 茶粉于 150 mL 的萃取瓶中,再向瓶内依次加入 3 μL 癸酸乙酯内标溶液(0.1 mg/mL)和 10 mL 热水(约 90 $^{\circ}\text{C}$)并马上盖上瓶盖。将萃取瓶转移到 60 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴中平衡 5 min,随后插入 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头,在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下萃取 40 min。进样时萃取头在 GC/MS/MS 进样口处解吸附 4.5 min。每份白茶样品分别平行萃取 3 次并分别进样测定。

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 $^{\circ}\text{C}$ 。以氦气为载气,流量设置为 1 mL/min。程序升温:初始柱温 50 $^{\circ}\text{C}$,保持 3 min,以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 250 $^{\circ}\text{C}$,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 $^{\circ}\text{C}$,离子源温度为 280 $^{\circ}\text{C}$,三重四极杆温度均设为 150 $^{\circ}\text{C}$;运行全扫描模式,扫描质量范围设定为 35~450 m/z ;设 5.5 min 溶剂延迟时间。

1.3 香气组分的化学计量学分析

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。化合物的定性以质谱数据(匹配度得分大于 75.0)和线性保留指数(偏差在 5 个单位内)为依据,两者均与 NIST14 库中数据比对,其中线性保留指数的计算方法参照 Van den Dool 和 Kratz 的定义^[26]与 Babushok 等的报道的计算公式^[27]。化合物的相对含量,即半定量值,则通过公式(1)由癸酸乙酯内标校正求得。对定性和半定量后的数据组进行以下两步前处理:(1)以每组化合物的中位数填充数据组中的缺失值^[28];(2)对数据进行对数变换和归一化处理^[29]。通过单因素方差分析(One-way analysis of variance, one-way ANOVA)结合最小显著差数(Fisher's least significant difference)的多重比较,以校正 p 值小于 0.05 为标准,找出在不同堆青样品组间具有显著差异的香气化合物。利用差异化合物进一步做主成分分析(Principle Component Analysis, PCA)和层次聚类分析(Hierarchical Cluster Analysis, HCA),综合反映不同堆青处理样品间的香气差异。层次聚类分析中采用欧式距离(Euclidian distance)计算样品间距,以离差平方和法(Ward's method)衡量类间距离。包括前处理在内的所有化学

$$\text{相对含量}/(\text{ng/g}) = \frac{\text{化合物基峰面积}}{\text{内标基峰面积}} \times \frac{\text{内标加入量}/\mu\text{L} \times \text{内标浓度}/(\mu\text{g}/\mu\text{L}) \times 1000/(\text{ng}/\mu\text{g})}{\text{茶样干重}/(\text{g})} \quad (1)$$

计量学分析均在 MetaboAnalyst (version 3.0) 中完成^[30]。

2 结果与讨论

2.1 堆青时间对白茶感官香气的影响

表 1 不同堆青时间白茶香气的感官品质

Table 1 The aroma quality of white tea samples with different pile-up durations

堆青时间	香气品质
堆青 0 h	鲜尚甜微青
堆青 16 h	甜香较浓郁、尚鲜
堆青 32 h	甜香浓郁、尚鲜
堆青 48 h	甜香较浓郁、欠鲜

从香气感官审评数据(表 1)可知,堆青后随着堆青时间的延长,白茶香气的甜香有所上升,而鲜度下降;在 4 个处理中,堆青 32 h 的白茶甜香最浓郁。

2.2 堆青时间对白茶香气组成和含量的影响

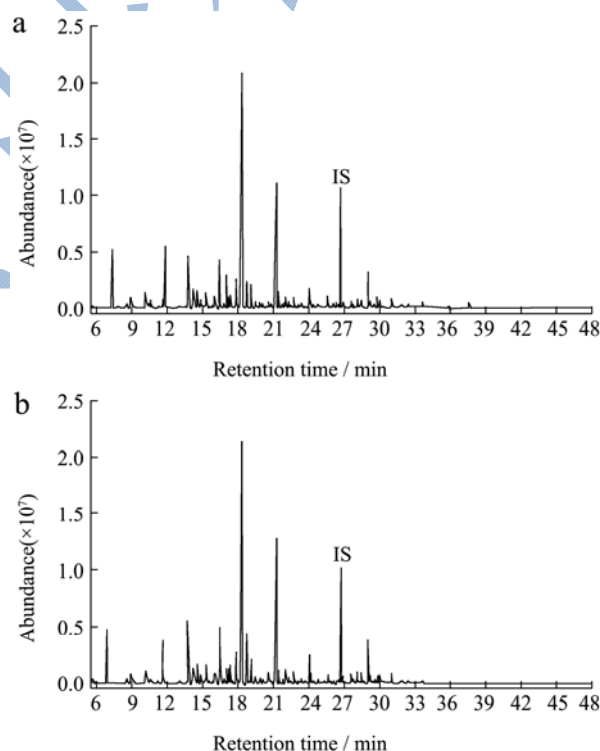


图 2 堆青前与堆青后白茶样品的总离子流色谱图(堆青 0 h 和 32 h)

Fig.2 The total ion chromatographies of white tea samples before and after pile-up treatment (with duration of 0 h and 32 h)

注: a. 堆青 0 h; b. 堆青 32 h; IS 标记的峰为内标峰。

从4份堆青时间为0 h、16 h、32 h和48 h的白茶样品中,共鉴别出55种香气化合物,其线性保留指数、定性结果、相对含量以及部分化合物的香气描述均列于表2;堆青前后样品的总离子色谱图(以堆青0 h和堆青32 h白茶为例)如图2所示。从化合物分类上看,55种化合物中13种为醇类,17种为醛类,8种为酯类,7种为酮类,7种为烃类,3种为含氧杂环化合物。

由表2可知,55种化合物中仅1种(3-糠醛)未在0 h样品中检出,说明样品间香气组成基本没变;单因素方差分析表明,55种香气化合物中有37种在

至少2组样品间具有显著差异(表2, $p < 0.05$)。这些差异化合物在堆青过程中表现出不同程度增加或减少;其中增长幅度较大的有:芳樟醇氧化物I、II、III、IV、苯乙醇、己醛和3-苯基呋喃,它们均在堆青48 h时较堆青0 h有50%以上的增幅;下降幅度较大的有:辛醛、己酸-顺-3-己烯酯、己酸-反-2-己烯酯和新植二烯,它们均在堆青48 h时较堆青0 h有50%左右的降幅。综上,不同时间的堆青处理对白茶的香气组成影响甚微,但能显著影响香气化合物的含量。

表2 不同堆青时间白茶香气化合物的组成和相对含量(平均值±标准差)

Table 2 The compositions and relative content (mean±standard deviation) of volatile organic compounds (VOCs) of white tea samples with different pile-up duration

编号	化合物名称	线性保留指数	相对含量/(ng/g)				感官香气 ⁱ
			堆青0 h	堆青16 h	堆青32 h	堆青48 h	
醇类化合物							
1	正己醇	865	10.47±0.99 ^{aii}	8.75±1.25 ^a	8.65±0.90 ^a	6.45±1.04 ^b	松香、花香、青气 ^[31]
2	2-庚醇	900	22.59±3.31	21.34±3.41	26.51±2.55	22.93±3.49	
3	1-辛烯-3-醇	979	4.83±0.47	4.80±0.54	6.39±0.41	5.43±0.80	
4	芳樟醇氧化物I	1074	7.37±0.42 ^B	11.74±1.47 ^A	12.14±0.89 ^A	12.98±1.85 ^A	甜香、花香 ^[33]
5	芳樟醇氧化物II	1090	16.74±1.06 ^B	24.40±2.87 ^A	25.53±1.77 ^A	26.84±3.60 ^A	甜香、花香 ^[33]
6	芳樟醇	1105	345.79±37.66	372.86±37.27	428.23±27.41	402.42±57.50	花香、紫罗兰香 ^[31]
7	苯乙醇	1117	37.63±1.54 ^C	56.03±3.77 ^B	76.29±1.54 ^A	70.00±9.22 ^A	蜜香、玫瑰香 ^[31]
8	顺-3-壬烯-1-醇	1154	1.76±0.05	1.76±0.14	2.12±0.08	1.86±0.20	
9	正壬醇	1171	0.73±0.02 ^{ab}	0.66±0.06 ^b	0.82±0.05 ^a	0.68±0.06 ^b	油脂气、柑橘香、青气 ^[31]
10	芳樟醇氧化物III	1174	0.84±0.08 ^B	1.54±0.17 ^A	1.69±0.12 ^A	1.82±0.21 ^A	甜香、花香 ^[33]
11	芳樟醇氧化物IV	1178	4.44±0.29 ^B	6.85±0.60 ^A	7.38±0.35 ^A	7.63±0.91 ^A	甜香、花香 ^[33]
12	香叶醇	1250	8.59±0.06	9.09±0.62	10.55±0.23	9.51±1.43	
13	反-橙花叔醇	1563	2.53±0.09	2.70±0.19	3.15±0.09	2.96±0.40	
醛类化合物							
14	反-2-戊烯醛	750	0.68±0.07	0.76±0.10	0.93±0.12	0.87±0.09	
15	己醛	800	3.59±0.35 ^C	4.94±1.02 ^B	6.45±0.59 ^A	5.66±0.44 ^{AB}	青气、油脂气 ^[31]
16	反-2-己烯醛	851	13.91±0.35	11.99±0.26	13.57±1.84	12.28±0.47	
17	反,反-2,4-己二烯醛	911	5.39±0.35 ^A	4.48±0.11 ^B	5.17±0.24 ^A	3.99±0.43 ^B	青气 ^[31]
18	顺-2-庚醛	957	0.71±0.09	0.70±0.13	1.02±0.23	0.77±0.04	
19	苯甲醛	965	93.01±6.48 ^C	105.96±7.35 ^B	126.63±3.90 ^A	118.33±12.44 ^{AB}	杏仁香、焦糖香 ^[31]
20	辛醛	1003	0.80±0.06 ^A	0.49±0.13 ^{BC}	0.59±0.02 ^{AB}	0.41±0.05 ^C	油脂气、肥皂气、青气 ^[31]
21	反,反-2,4-庚二烯醛	1012	34.10±1.63 ^B	36.55±1.62 ^B	45.71±2.09 ^A	35.90±3.84 ^B	油炸气味 ^[31]
22	苯乙醛	1047	95.88±4.52 ^B	108.15±8.83 ^B	139.41±8.53 ^A	128.82±10.16 ^A	蜜香、甜香 ^[31]
23	反-2-辛烯醛	1059	2.09±0.06 ^C	2.30±0.17 ^{BC}	3.05±0.28 ^A	2.42±0.23 ^B	青气、果仁香、油脂气 ^[31]

转下页

接上页

24	反-2-壬烯醛	1161	1.23±0.01 ^b	1.28±0.11 ^b	1.52±0.07 ^a	1.24±0.14 ^b	黄瓜气味、青气、 油脂气 ^[31]
25	癸醛	1206	1.20±0.02 ^B	0.98±0.12 ^C	1.76±0.05 ^A	1.11±0.13 ^{BC}	肥皂气味、 橙子皮气味 ^[31]
26	反,反-2,4-壬二烯醛	1217	3.60±0.13 ^{BC}	3.95±0.20 ^B	5.09±0.21 ^A	3.22±0.42 ^C	油脂气、蜡、青气 ^[31]
27	β -环柠檬醛	1226	3.05±0.05 ^C	3.17±0.29 ^C	4.24±0.25 ^A	3.67±0.39 ^B	薄荷香 ^[31] , 青气、 甜香 ^[32]
28	2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-乙 醛	1263	0.61±0.02 ^C	0.56±0.06 ^C	0.78±0.04 ^A	0.65±0.06 ^B	未查得
29	柠檬醛	1269	0.96±0.12 ^b	1.00±0.05 ^b	1.31±0.05 ^a	1.05±0.17 ^b	柠檬香 ^[31]
30	2-苯基-2-丁烯醛	1273	2.10±0.03 ^b	2.02±0.12 ^b	2.59±0.06 ^a	2.31±0.30 ^{ab}	
酯类化合物							
31	丁酸-顺-3-己烯酯	1184	2.46±0.12 ^A	1.38±0.15 ^B	1.23±0.11 ^B	0.86±0.13 ^C	苹果皮气味 ^[31]
32	水杨酸甲酯	1199	181.33±13.55 ^b	191.06±12.47 ^b	241.46±6.09 ^a	210.19±27.28 ^{ab}	薄荷香 ^[31]
33	顺-3-己烯醇-2-甲基丁酸酯	1230	2.19±0.03 ^a	2.31±0.31 ^a	2.24±0.13 ^a	1.73±0.20 ^b	未查得
34	正戊酸-顺-3-己烯酯	1235	3.41±0.07	3.26±0.47	3.44±0.28	2.89±0.40	
35	乙酸苯乙酯	1256	0.92±0.04 ^A	1.42±0.08 ^{AB}	1.59±0.04 ^B	1.28±0.17 ^C	玫瑰香、蜜香、 烟草香 ^[31]
36	己酸-顺-3-己烯酯	1379	3.66±0.09 ^A	2.82±0.32 ^B	2.58±0.05 ^B	1.99±0.29 ^C	果香、干果气 ^[31]
37	顺-3-己烯酸-顺-3-己烯酯	1384	1.35±0.08	1.37±0.21	1.34±0.05	1.13±0.01	
38	己酸-反-2-己烯酯	1387	2.63±0.11 ^a	2.20±0.31 ^{ab}	1.93±0.10 ^{bc}	1.40±0.21 ^c	未查得
酮类化合物							
39	3-辛烯-2-酮	1038	1.57±0.17 ^b	2.12±0.07 ^a	2.40±0.37 ^a	1.99±0.23 ^a	果仁香 ^[32]
40	反,反-3,5-辛二烯-2-酮	1069	13.16±0.72 ^C	15.77±1.34 ^B	19.30±0.53 ^A	14.42±1.98 ^{BC}	果香、油脂气、 蘑菇气味 ^[31]
41	α -紫罗兰酮	1428	4.71±0.07 ^B	4.63±0.36 ^B	6.50±0.29 ^A	5.23±0.60 ^B	木香、紫罗兰香 ^[31]
42	香叶基丙酮	1448	4.69±0.20 ^B	4.42±0.31 ^B	6.39±0.22 ^A	5.11±0.66 ^B	花香 ^[32]
43	β -紫罗兰酮	1485	41.69±0.31 ^B	38.05±2.41 ^B	55.94±2.38 ^A	43.64±5.05 ^B	花香、紫罗兰香 ^[31]
44	5,6-环氧化- β -紫罗兰酮	1488	8.90±0.14 ^B	6.84±0.30 ^C	11.13±0.26 ^A	7.35±1.06 ^C	木香 ^[32]
45	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	1841	0.41±0.06	0.30±0.01	0.42±0.01	0.43±0.12	花香、茉莉香 ^[32]
烃类化合物							
46	β -香叶烯	989	30.29±1.07	31.66±2.45	34.74±2.69	30.93±5.81	
47	α -蒎品烯	1020	1.56±0.04	1.60±0.15	1.73±0.19	1.57±0.28	
48	对甲基异丙基苯	1028	3.48±0.23	3.38±0.29	3.71±0.38	3.37±0.33	
49	柠檬烯	1033	6.82±0.29	7.01±0.63	7.56±0.70	6.79±1.10	
50	萜	1195	23.55±3.42 ^B	14.78±1.14 ^C	31.62±3.33 ^A	29.46±5.42 ^{AB}	柏油气味 ^[31]
51	正十三烷	1300	4.15±0.54 ^b	7.57±1.42 ^a	6.29±1.15 ^a	6.00±0.83 ^a	未查得
52	新植二烯	1836	0.22±0.06 ^A	0.10±0.00 ^C	0.11±0.01 ^B	0.15±0.03 ^B	未查得
含氧杂环化合物							
53	3-糠醛	831	- ⁱⁱⁱ	2.21±0.13	3.42±0.04	3.05±0.39	
54	2-戊基咪喃	990	5.54±1.08	7.21±1.65	7.78±0.98	6.81±0.60	
55	3-苯基咪喃	1229	3.70±0.20 ^C	4.60±0.35 ^B	5.72±0.17 ^A	5.59±0.82 ^A	未查得

注: i.表中仅标注差异显著化合物的感官香气; ii.差异化合物的显著水平以字母表示,其中大写字母代表差异极显著($p<0.01$),小写字母代表差异显著($p<0.05$); iii.“-”表示化合物未在样品中被检出。

2.3 不同堆青时间白茶的香气综合差异

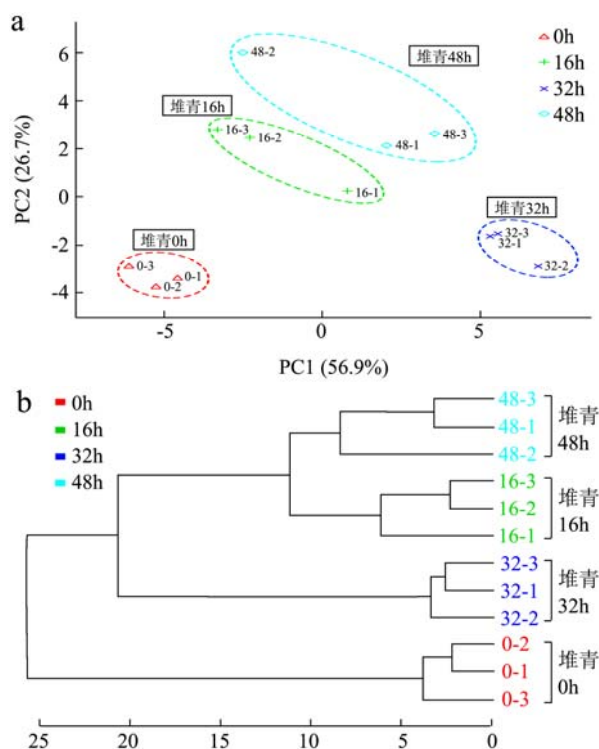


图3 基于37种差异香气化合物的主成分分析得分图(a)和层次聚类分析谱系图(b)

Fig.3 The PCA score plot (a) and sample-wise HCA

dendrogram (b) based on the 37 significantly-different VOCs

由于堆青工艺对白茶香气的影响主要体现在相对含量的变化上,因此选取37种在4组样品间具有显著差异的香气化合物用于主成分分析(PCA)和层次聚类分析(HCA),综合反映堆青对白茶香气造成的差异,同时找出对差异贡献较大的香气化合物。

主成分分析的结果以得分图形式表示(图3a)。由分析结果可知,前两个主成分(PC1和PC2)的累积贡献率达到83.6%,已较好的概括了原数据中的信息。总体而言,4份堆青样品均能被较好的区分,这说明不同时间的堆青处理对白茶香气有不同程度的影响。3份堆青后的样品都分布在得分图的右上方(PC1和PC2轴的正向),相互之间比较接近,并且都明显与堆青0h的样品分开。PC1占有主成分方差的56.9%,堆青0h与其余3份堆青后的样品在PC1方向上均能被区分,其中对堆青32h白茶的区分最为明显;PC2占有主成分方差的26.7%,在PC2方向上堆青0h的白茶主要与堆青16h和48h的白茶被区分。白茶样品在得分图上的分布反映出,PC1和PC2中载荷较高的香气化合物对各堆青样品的区分有较大贡献(表3)。PC1中β-环柠檬醛、反-2-辛烯醛、苯乙醛、苯甲醛、水杨酸甲酯、苯乙醇、3-苯基咪喃、α-紫罗

兰酮、己醛、反,反-2,4-庚二烯醛的载荷较高且均为正值,即这些化合物与PC1正相关,这与它们在堆青后含量普遍提高的现象相吻合(表2),尤其对于堆青32h的白茶。PC2中反,反-2,4-己二烯醛、辛醛、己酸-顺-3-己烯酯、正己醇、丁酸-顺-3-己烯酯、5,6-环氧化-β-紫罗兰酮、己酸-反-2-己烯酯、正壬醇、顺-3-己烯醇-2-甲基丁酸酯的载荷较高且均为负值,即这些化合物与PC2负相关,这与它们在堆青后,主要是堆青16h和48h中含量普遍下降的现象较一致(表2)。

层次聚类分析的结果以谱系图表示(图3b)。12份样品按4种不同堆青处理各自聚成一类。从聚类顺序上看,堆青16h和48h两组白茶最先聚为一类,其次是堆青32h的白茶,最后是堆青0h的白茶;即反映出堆青16h和48h白茶香气化合物上相似度最高,32h白茶其次,0h白茶再次;这与主成分分析的结果一致。

表3 前两个主成分(PC1和PC2)中载荷值(绝对值)前10的化合物

Table 3 The VOCs with loading value of top 10 (in order of absolute value) in PC1 and PC2

次序	PC1		PC2	
	化合物	载荷值	化合物	载荷值
1	β-环柠檬醛	0.211	反,反-2,4-己二烯醛	-0.307
2	反-2-辛烯醛	0.211	辛醛	-0.283
3	苯乙醛	0.210	己酸-顺-3-己烯酯	-0.260
4	苯甲醛	0.210	正己醇	-0.259
5	水杨酸甲酯	0.209	丁酸-顺-3-己烯酯	-0.257
6	苯乙醇	0.202	5,6-环氧化-β-紫罗兰酮	-0.250
7	3-苯基咪喃	0.202	己酸-反-2-己烯酯	-0.238
8	α-紫罗兰酮	0.201	正壬醇	-0.232
9	己醛	0.200	顺-3-己烯醇-2-甲基丁酸酯	-0.215
10	反,反-2,4-庚二烯醛	0.198	芳樟醇氧化物III	0.191

2.4 堆青过程中白茶香气化合物的变化趋势

为了进一步分析堆青时长对白茶香气的影响,对37种差异化合物做层次聚类分析,并辅以基于化合物相对含量(对数变换和归一化后值)的热度图,找出堆青过程中变化趋势相近的香气物质,结果如图4所示。

由谱系图和热度图可知,差异香气化合物在堆青过程中的变化趋势总体可分为3种。随堆青总体下降

的化合物聚于类 I，其中以具有 6 个碳的醇、醛以及其衍生出的酯类为主，如正己醇、反,反-2,4-己二烯醛、丁酸-顺-3-己烯酯、己酸-顺-3-己烯酯等。随堆青总体上升的化合物聚于类 II，其中以具有芳环结构的化合物为主，如苯甲醛、苯乙醛、苯乙醇、乙酸苯乙酯、四种芳樟醇氧化物等。类 III 中的化合物均在堆青 32 h 处含量最高，其中较多表现出先增后降的趋势，如水杨酸甲酯、 β -环柠檬醛和柠檬醛等；也有部分化合物不表现出明显的变化趋势，如 α -紫罗兰酮、 β -紫罗兰酮和香叶基丙酮等，但它们多数在堆青后期（32 h 和 48 h）有较高的含量。

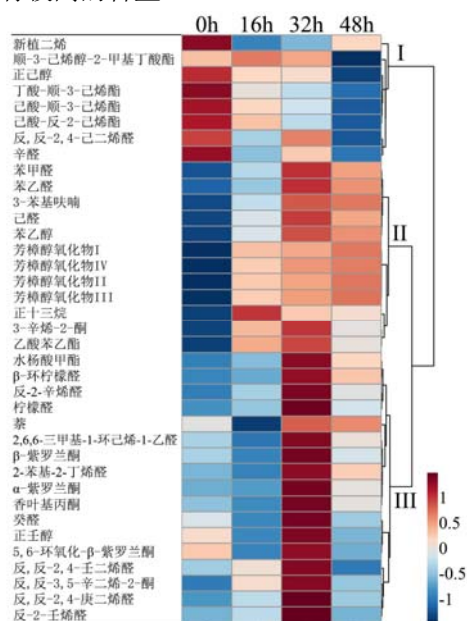


图 4 差异香气化合物在不同堆青时间白茶间相对含量的热图
和谱系图

Fig.4 The heat map and feature-wise HCA dendrogram of the 37 significantly-varied VOCs in white tea samples with different pile-up duration

注：图中红色表示较高含量，蓝色表示较低含量，具体差异程度见右下角标尺。

2.5 堆青过程中白茶香气化合物和感官香气变化的联系

茶叶香气感官品质与香气化合物的组成关系密切。由审评结果可知（表 1），堆青对白茶香气感官品质的影响主要表现在（1）甜香增强和（2）鲜度下降两方面，其中堆青前（堆青 0 h）与堆青后（堆青 16 h、32 h 和 48 h）样品间的差异较明显。从 PCA 和 HCA 结果中也可发现，三份堆青后样品的相似度较高，且均能与堆青前样品区分（图 3）；这与感官品质的变化较一致，意味着两种分析所基于的 37 种差异化合物与

感官变化较具联系。白茶甜香的增强，可能与苯乙醇、苯甲醛、苯乙醛、乙酸苯乙酯和四种芳樟醇氧化物随堆青时间延长的总体上升有关（图 4），以及与 β -环柠檬醛、反-2-辛烯醛和 α -紫罗兰酮在堆青后含量的普遍较高（表 3）相关；这些化合物具有甜香、蜜香、花香或果仁香的香气特征（表 2），其中芳樟醇氧化物 I 和 II、苯乙醛、 α -紫罗兰酮是茶叶中重要的呈香物质，具有较低的香气阈值^[32,34]。白茶香气鲜度的下降，可能与正己醇、反,反-2,4-己二烯醛和辛醛在堆青后含量的普遍较低（图 4 和表 3）相关；这些化合物都具有青香的香气特征，且阈值也较低^[35]；它们的下降也可能是导致微青消失的原因。值得注意的是，少部分化合物在变化趋势和香气特征的综合表现上与白茶总体香气品质的变化并不一致；例如，可能对甜香有贡献的丁酸-顺-3-己烯酯（苹果皮气味）和己酸-顺-3-己烯酯（果香、干果香），它们的含量却随堆青呈总体减少的趋势；可能对鲜度有贡献的水杨酸甲酯（薄荷香）和己醛（青气）反而在堆青后期含量较高。这说明在联系香气感官品质和化合物时，除了参考化合物含量的变化外，还应结合阈值考虑其香气活度值（odor activity value）^[36]，从而判断该香气物质是否对感官有实际贡献，这部分结果的阐释有待进一步研究。

2.6 堆青工艺对白茶香气影响原因的推测

茶叶中香气化合物的组成复杂，来源多样，形成机理各异^[37,38]。加工过程中，香气化合物的形成不仅是香气前体直接受热、光、氧化等作用下化学变化的结果，也是鲜活茶叶在酶触反应下的产物。无论是衍生于糖苷的水解，脂肪酸或类胡萝卜素的氧化，还是萜烯和莽草酸途径的代谢，香气物质的形成都离不开酶的作用^[37,38]。对于白茶加工，茶叶中的酶在烘干前一直保持活性，因此其对堆青香气转变的作用不可忽视。堆青将原本平铺的茶叶团聚在一起，一方面可引起叶温的上升^[15]，另一方面使茶叶的水分重新分布，并限制了茶叶含水量的进一步减少。研究表明酶的活性受环境温度和茶叶中水分的影响^[10,39,41]，温度升高有利于部分酶活性的增强^[40]，而适度失水虽然也有利于一些酶活性的提高^[41,42]，但过低的含水量却会对其活性有负面影响^[41]。堆青为酶触反应创造了较好的条件；这可能是导致由糖苷水解产生的苯乙醇、水杨酸甲酯、四种芳樟醇氧化物等化合物，以及由脂肪酸或类胡萝卜素氧化产生的己醛、反-2-辛烯醛、 α -紫罗兰酮、 β -紫罗兰酮等化合物，随堆青时间延长在整体或部分增加的原因。而对于如辛醛、顺-3-己烯醇-2-甲基丁酸酯、己酸-顺-3-己烯酯等随堆青下降的脂肪酸衍生

香气, 虽暂未明确其可能原因, 但类似的现象也在摇青后摊放时长不同的乌龙茶中也有被观察到^[40]。

3 结论

3.1 随着堆青时间的不同, 白茶在感官香气表现出甜香增强而鲜度下降的趋势, 其中 32 h 时甜香最盛。堆青过程中香气化合物的变化主要表现为组成不变而含量差异明显; 不同堆青程度的白茶可基于 37 种差异显著的香气化合物被区分, 其中堆青前与堆青后的 3 个样品差异明显; 差异化化合物随堆青表现出三种变化趋势, 多数在堆青后期含量较高, 尤其在堆青 32 h 时积累最盛。综合感官香气与化合物的变化, 32 h 的堆青时长较有利于白茶香气的发展。

3.2 白茶在堆青后甜香的增强可能与苯乙醇、苯甲醛、苯乙醛、乙酸苯乙酯和四种芳樟醇氧化物随堆青的总体上升, 以及 β -环柠檬醛、反-2-辛烯醛和 α -紫罗兰酮在堆青后含量的普遍增加相关; 而鲜度下降和青气的减退可能与正己醇、反,反-2,4-己二烯醛和辛醛在堆青后含量的普遍减少相关。

3.3 化学计量学能有效的从庞杂数据中找出差异化化合物, 筛选对差异贡献大的物质, 并归纳出化合物随不同处理的变化趋势。

参考文献

- [1] 史敬芳,陈栋,黄文洁,等.基于 HS-SPME-GC-MS 技术对凤凰单丛乌龙茶香气成分比较分析[J].食品科学,2016,37(24):111-117
SHI Jing-fang, CHEN Dong, HUANG Wen-jie, et al. Analysis of flavor components in Fenghuang Dancong Oolong teas using HS-SPME-GC-MS [J]. Food Science, 2016, 37(24): 111-117
- [2] 王秋霜,吴华玲,陈栋,等.广东英德红茶代表产品的香气成分鉴定研究[J].茶叶科学,2012,32(5):448-456
WANG Qiu-shuang, WU Hua-ling, CHEN Dong, et al. Study and identification on the aroma components of the representative products of Yingde black tea in Guangdong [J]. Journal of Tea Science, 2012, 32(5): 448-456
- [3] 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
- [4] Fu X, Chen Y, Mei X, et al. Regulation of formation of volatile compounds of tea (*Camellia sinensis*) leaves by single light wavelength [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 16858
- [5] Baldermann S, Yang Z, Katsuno T, et al. Discrimination of green, oolong, and black teas by GC-MS analysis of characteristic volatile flavor compounds [J]. American Journal of Analytical Chemistry, 2014, 5(9): 620-632
- [6] Gui J, Fu X, Zhou Y, et al. Does Enzymatic hydrolysis of glycosidically bound volatile compounds really contribute to the formation of volatile compounds during the oolong tea manufacturing process? [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(31): 6905-6914
- [7] Cho J Y, Mizutani M, Shimizu B, et al. Chemical profiling and gene expression profiling during the manufacturing process of Taiwan Oolong tea "Oriental Beauty" [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2007, 71(6): 1476-1486
- [8] Zhang L, Zeng Z, Zhao C, et al. A comparative study of volatile components in green, Oolong and black teas by using comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry and multivariate data analysis [J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1313(20): 245-252
- [9] Wang L F, Lee J Y, Chung J O, et al. Discrimination of teas with different degrees of fermentation by spme-gc analysis of the characteristic volatile flavour compounds [J]. Food Chemistry, 2008, 109(1): 196-206
- [10] 郭丽,郭雅玲,廖泽明,等.中国白茶的香气成分研究进展[J].食品安全质量检测学报,2015,6(9):3580-3586
GUO Li, GUO Ya-ling, LIAO Ze-ming, et al. Research advance in aroma components of white tea [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2015, 6(9): 3580-3586
- [11] 陈维,马成英,王雯雯,等.萎凋时间对“英红九号”白茶香气的影 响[J].食品科学,2017,38(18):138-143
CHEN Wei, MA Cheng-ying, WANG Wen-wen, et al. Effects of withering duration on the aroma profile of Yinghong No. 9 white tea [J]. Food Science, 2017, 38(18): 138-143
- [12] 施兆鹏.茶叶加工学[M].北京:中国农业出版社,1997
SHI Zhao-peng. Tea Manufacture [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997
- [13] 郭龄盛,王振康,郭少平,等.高 γ -氨基丁酸白茶加工工艺探讨[J].福建茶叶,2012,34(4):16-17
WU Ling-sheng, WANG Zhen-kang, GUO Shao-ping, et al. Discussion of production methods on white tea with High GABA [J]. Tea in Fujian, 2012, 34(4): 16-17
- [14] 郭龄盛,王秀萍,章细英,等.高 γ -氨基丁酸白茶品质升级工艺探讨[J].茶叶学报,2012,4:13-15
WU Ling-sheng, WANG Xiu-ping, ZHANG Xi-ying, et al. Discussion of production methods on white tea quality upgrading with high GABA [J]. Acta Tea Sinica, 2012, 4:

- 13-15
- [15] 陈宗懋,杨亚辉.中国茶经(2011 修订版)[M].上海:上海文化出版社,2012
- CHEN Zong-mao, YANG Ya-hui. Book of Chinese tea (revised in 2011) [M]. Shanghai: Shanghai Culture Publishing House, 2012
- [16] 林学诗.乌龙茶可控环境做青工艺研究[J].茶叶学报,1990, 1:5-10
- LIN Xue-shi. Study on environmentally-controlled green-making process in Oolong tea manufacture [J]. Acta Tea Sinica, 1990, 1: 5-10
- [17] 张天福,林心炯,焦海晏,等.乌龙茶做青工艺的研究[J].茶叶科学简报,1989,3:20-25
- ZHANG Tian-fu, LIN Xin-jiong, JIAO Hai-yan, et al. Study on green-making process of Oolong tea manufacture [J]. Acta Tea Sinica, 1989, 3: 20-25
- [18] 袁杰,翁连进,耿嶝,等.铁观音加工工序中的香气成分分析[J].氨基酸和生物资源,2015,37(2):24-28
- YUAN Jie, YONG Lian-jin, GENG Di, et al. Analysis of aroma components in the manufacturing procedures of Tieguanyin [J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2015, 37(2): 24-28
- [19] Gómez-Caravaca A M, Maggio R M, Cerretani L. Chemometric applications to assess quality and critical parameters of virgin and extra-virgin olive oil. a review [J]. Analytica Chimica Acta, 2016, 913: 1-21
- [20] Bressanello D, Liberto E, Cordero C, et al. Coffee aroma: chemometric comparison of the chemical information provided by three different samplings combined with GC-MS to describe the sensory properties in cup [J]. Food Chemistry, 2017, 214: 218-226
- [21] Farneti B, Khomenko I, Cappellin L, et al. Comprehensive VOC profiling of an apple germplasm Collection by PTR-ToF-MS [J]. Metabolomics, 2015, 11(4): 838-850
- [22] Rambla J L, González-Mas M C, Pons C, et al. Fruit volatile profiles of two citrus hybrids are dramatically different from those of their parents [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(46): 11312-11322
- [23] 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
- LI Jia-xian, ZENG Fu-gui, QIU Tao-rui, et al. The breeding and utilization of new cultivar Yinghong No.9 [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 1999, 1: 26-28
- [24] 黄国资.英红九号加工白茶的技术指标研究[J].广东茶业,1996,2:27-31
- HUANG Guo-zi. The study of technical indicators for Yinghong No.9 white tea processing [J]. Guangdong Tea Industry, 1996, 2: 27-31
- [25] GB/T 23776-2009,茶叶感官审评[S]
- GB/T 23776-2009, Methodology of Sensory Evaluation of Tea [S]
- [26] 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
- [27] 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
- [28] Armitage E G, Godzien J, Alonso-herranz V, et al. Missing value imputation strategies for metabolomics data [J]. Electrophoresis, 2016, 36(24): 3050-3060
- [29] Xia J, Wishart D S. Web-based Inference of Biological Patterns, Functions and Pathways from Metabolomic Data Using MetaboAnalyst [J]. Nature Protocols, 2011, 6(6): 743-760
- [30] Xia J, Sinelnikov I V, Han B, et al. Metabo analyst 3.0-making metabolomics more meaningful [J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(W1): W251-W257
- [31] Acree T, Arn H, Flavornet and Human Odor Space [DB/OL]. 2004, [2017-11-24]. <http://www.flavornet.org/flavornet.html>.
- [32] 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
- [33] 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
- [34] Schuh C, Schieberle P. Characterization of the Key Aroma Compounds in the Beverage Prepared from Darjeeling Black Tea: quantitative differences between tea leaves and infusion [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(3): 916-924
- [35] Zhu J C, Chen F, Wang L Y, et al. Comparison of Aroma-active Volatiles in Oolong Tea Infusions Using GC-olfactometry, GC-FPD, and GC-MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(34): 7499-7510
- [36] Gaonkar A G. Characterization of food: emerging methods [M]. Amsterdam: Elsevier, 1995
- [37] Yang Z, Baldermann S, Watanabe N. Recent studies of the volatile compounds in tea [J]. Food Research International,

- 2013, 53(2): 585-599
- [38] Ho C T, Zheng X, Li S. Tea aroma formation [J]. Food Science and Human Wellness, 2015, 4(1): 9-27
- [39] 滑金杰,袁海波,王伟伟,等.萎凋温度对鲜叶主要生化成分和酶活动态变化规律的影响[J].茶叶科学,2015,35(1):73-81
HUA Jin-jie, YUAN Hai-bo, WANG Wei-wei, et al. Effect of withering temperature on dynamic changes of main biochemical components and enzymatic activity of tea fresh leaves [J]. Journal of Tea Science, 2015, 35(1): 73-81
- [40] 段玲靓.加工工艺改善夏秋粗老茶香气与滋味的研究[D].杭州:浙江大学,2012
DUAN Ling-liang. The study of processing technique on aroma and taste of tea in summer and autumn [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012
- [41] 夏涛,童启庆,董尚胜,等.红茶萎凋发酵中 β -葡萄糖苷酶的活性变化[J].茶叶科学,1996,1:63-66
XIA Tao, TONG Qi-qing, DONG Shang-sheng, et al. Studies on the change of β -Glucosidase activity during the withering and fermentation of black tea [J]. Journal of Tea Science, 1996, 1: 63-66
- [42] 林方谦.基于LC-MS技术的红茶加工过程中重要品质成分形成的代谢谱分析[D].合肥:安徽农业大学,2015
LIN Fang-qian. Metabolic profiling analysis on the formation of major quality components during black tea processing using LC-MS technology [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2015