

β -葡萄糖苷酶有效提升速溶乌龙茶粉水溶液的花香、果香及青草香

方可¹, 李婷¹, 朱艳冰^{1,2,3}, 倪辉^{1,2,3}, 黄高凌^{1,2,3}

(1. 集美大学食品与生物学院, 福建厦门 361021) (2. 福建省食品微生物与酶工程重点实验室, 福建厦门 361021) (3. 厦门市食品生物工程技术研究中心, 福建厦门 361021)

摘要: 本实验采用气相色谱-质谱联用法 (GC-MS) 对 β -葡萄糖苷酶处理前后的速溶乌龙茶粉水溶液挥发性成分进行定性定量分析, 结合其香气强度值 (OAVs) 及感官评价, 分析其主要香气轮廓, 确定 β -葡萄糖苷酶对速溶乌龙茶粉挥发性成分的影响。经 GC-MS 分析, 从 β -葡萄糖苷酶处理前后的速溶乌龙茶粉水溶液中共鉴定出 37 种挥发性成分, 其中醇类 9 种, 酯类 4 种, 烯炔类 11 种, 呋喃类 4 种, 醛类 5 种和其它类 4 种。酶处理后, 顺式-3-己烯醇 (15416.97 $\mu\text{g/L}$)、己醇 (476.14 $\mu\text{g/L}$)、香叶醇 (6542.43 $\mu\text{g/L}$)、苯甲醛 (707.32 $\mu\text{g/L}$)、水杨酸甲酯 (268.81 $\mu\text{g/L}$)、3-甲基丁醇 (95.24 $\mu\text{g/L}$)、2-庚醇 (61.26 $\mu\text{g/L}$)、2-乙基己醇 (47.61 $\mu\text{g/L}$)、辛醇 (30.29 $\mu\text{g/L}$)、壬醇 (103.26 $\mu\text{g/L}$)、己酸己酯 (87.75 $\mu\text{g/L}$) 的含量显著增加, 且花香、果香和青草香大幅度增加, 主要香气贡献成分为癸醛、顺式-3-己烯醇、香叶醇、2-甲基丁醇和 2-乙基呋喃。研究表明 β -葡萄糖苷酶可显著改变速溶乌龙茶粉水溶液的挥发性成分和香气轮廓, 为速溶茶粉后续加工食品的风味改良提供了技术参考。

关键词: 速溶乌龙茶粉水溶液; β -葡萄糖苷酶; 挥发性成分; 感官评价; 香气强度值

文章编号: 1673-9078(2018)11-235-242

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.035

β -glucosidase Effectively Improves the Floral, Fruity and Grassy Notes of Instant Oolong Tea Infusion

FANG Ke¹, LI Ting¹, ZHU Yan-bing^{1,2,3}, NI Hui^{1,2,3}, HUANG Gao-ling^{1,2,3}

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China) (2. Key Laboratory of food microbiology and enzyme engineering technology of Fujian province, Xiamen 361021, China) (3. Research center of food biotechnology of Xiamen city, Xiamen 361021, China)

Abstract: To investigate the effect of β -glucosidase on the volatile components of instant oolong tea infusion, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), aroma activity values (OAVs) and sensory evaluation were used to analyze the volatile compounds and the main aroma profiles. Totally 37 kinds of volatile compounds, including 9 alcohols, 4 esters, 11 olefins, 4 furans, 5 aldehydes, and 4 of other chemicals were identified. The content of 11 kinds of volatile components, including cis-3-hexenol (15416.97 $\mu\text{g/L}$), hexanol (476.14 $\mu\text{g/L}$), geraniol (6542.43 $\mu\text{g/L}$), benzaldehyde (707.32 $\mu\text{g/L}$), methyl salicylate (268.81 $\mu\text{g/L}$), 3-methyl butanol (95.24 $\mu\text{g/L}$), 2-heptanol (61.26 $\mu\text{g/L}$), 2-ethyl hexanol (47.61 $\mu\text{g/L}$), octanol (30.29 $\mu\text{g/L}$), decyl alcohol (103.26 $\mu\text{g/L}$), and hexyl hexanoate (87.75 $\mu\text{g/L}$) increased after the treatment with β -glucosidase. Meanwhile, the floral, fruity and grassy note were greatly enforced, and the major aroma contributor were furfural, cis-3-hexenol, geraniol, 2-methylbutanal and 2-ethylfuran. These results showed that β -glucosidase had a significant effect on the volatile compounds and aroma profile of instant oolong tea infusion, which provides a technological reference for improving the aroma quality of instant tea based foods.

Key words: instant oolong tea infusion; β -glucosidase; volatile component; sensory evaluation; aroma activity value

香气是评价茶品质优劣的重要因素。茶叶中香气的实质是不同芳香成分以不同浓度组合的综合表现, 研究茶叶产品香气特征及化学组成不仅可以丰富茶叶

收稿日期: 2018-07-24

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (2017J01581)

作者简介: 方可 (1994-), 女, 硕士在读, 研究方向: 食品加工与安全

通讯作者: 黄高凌 (1966-), 女, 副教授, 研究方向: 食品化学

生物化学理论知识, 而且对改善和提高茶叶香气品质也具有重要意义^[1]。茶叶根据加工方式不同可分为白茶、黄茶、绿茶、乌龙茶、红茶和黑茶^[2], 其中乌龙茶属于半发酵茶, 既有绿茶的清香和花香, 又有红茶的醇厚滋味, 受到广大消费者喜爱^[3]。随着人们生活节奏的加快, 以及产业分工的精细化, 速溶茶粉以其方便携带、容易加工等优点逐渐成为茶叶食品的重要

中间体^[4],但是由于速溶茶粉在加工过程中经过高温浸提、真空浓缩、喷雾干燥等加工工艺,导致茶叶原有风味成分大量损失,如朱旗等人^[5]研究发现,喷雾干燥后的速溶茶粉香气与茶叶香气相差较大。茶中香气成分主要来源于类胡萝卜素降解、油脂氧化、糖苷类前体水解和美拉德反应^[6]。相关研究表明,许多香气成分以糖苷类前体的形式存在于茶叶中^[7],并且茶本身存在一些可以水解前体成分释放香气成分的关键酶类,例如 β -葡萄糖苷酶、 β -半乳糖苷酶和 β -樱草糖苷酶等^[8]。在茶叶及速溶茶粉加工过程中,虽然高温会导致内源糖苷酶失活,但是残留的糖苷类前体仍然可以在外源糖苷酶作用下释放出香气成分。

改善速溶茶粉香气的众多方法中,酶技术是较为有效的方法^[9],因为酶可特异性地作用于香气前体释放出游离的香气成分^[10],且不影响其他活性及风味成分,因此可在速溶茶粉后续加工产品生产的配料过程中进行酶反应而改良风味。有学者利用外源 β -葡萄糖苷酶处理绿茶汤后,顺式-3-己烯醇、水杨酸甲酯和芳香族醇含量显著增加^[11]。 β -葡萄糖苷酶处理绿茶、乌龙茶和红茶后香气精油总量分别增加了20.69%、10.30%和6.79%^[12]。虽然已有研究报道 β -葡萄糖苷酶对茶汤和茶饮料的影响,但由于不同茶叶产品中残留的香气前体不同,目前尚不明确各类速溶茶粉中香气前体的种类及含量,且尚未研究 β -葡萄糖苷酶对速溶茶粉产品香气的释放作用。

针对以上研究现状,本文用 β -葡萄糖苷酶对速溶乌龙茶粉水溶液进行处理,综合运用GC-MS、感官品评和OAVs分析评价酶处理前后的香气变化,阐明 β -葡萄糖苷酶对速溶乌龙茶粉水溶液香气的改良效果,为提高速溶茶粉后续加工产品的风味提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

喷干型速溶乌龙茶粉,由福建大闽食品有限公司提供。

1.2 主要试剂

β -葡萄糖苷酶购于上海源叶公司;环己酮、正构烷烃(C₈₋₂₀)、2-甲基呋喃、2-乙基呋喃、*N*-乙基吡啶、芳樟醇、壬醛、癸醛、反式- β -罗勒烯、 α -蒎品烯、蒎品油烯、 γ -蒎品烯、壬醛、3,5-二甲基苯酚、2-戊基呋喃购于美国Sigma公司;香叶醇、苯甲醛、顺式-3-己烯醇、水杨酸甲酯、己酸己酯、伞花烃、柠檬烯、反式- β -罗勒烯、己醇、辛醇购于英国Alfa Aesar公司。

1.3 主要仪器

手动SPME进样器,美国Supelco公司(Bellefonte, PA, USA);50/30 μ m DVB/CAR/PDMS萃取头购于美国Supelco公司;QP 2010气相色谱-质谱联用仪(GC-MS),日本岛津公司;Rtx-5MS色谱柱购于美国Restek公司(Bellefonte, PA, USA);RO-03A制冰机购于深圳市日欧制冷设备有限公司;GZX-DH电热恒温干燥箱购于上海跃进医疗器械厂。

1.4 实验方法

1.4.1 样品的制备

速溶乌龙茶粉水溶液样品:称取3 g速溶乌龙茶粉于60 mL顶空瓶中,加入30 mL纯水。

β -葡萄糖苷酶溶液:在60 mL顶空瓶中加入 β -葡萄糖苷酶(10 U)和30 mL纯水。

β -葡萄糖苷酶处理速溶乌龙茶粉水溶液样品:称取3 g速溶乌龙茶粉于60 mL顶空瓶中,加入30 mL纯水和 β -葡萄糖苷酶(10 U)。

1.4.2 GC-MS分析的操作条件^[13]

样品在40 $^{\circ}$ C水浴锅中平衡1 h后吸附20 min,在进样口处解吸附3 min。按照以下的条件进行GC-MS分析。

色谱条件:色谱柱是Rtx-5MS(60 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m),用高纯氦气(纯度99.999%)作为载气,柱流量为3 mL/min,不分流进样。升温程序:选择程序升温,进样口温度为230 $^{\circ}$ C;最初温度为50 $^{\circ}$ C并保持5 min,以3 $^{\circ}$ C/min升温至200 $^{\circ}$ C,在200 $^{\circ}$ C保持1 min。

质谱条件:离子源温度为200 $^{\circ}$ C,电离方式为EI,电离能量为70 eV,接口温度为250 $^{\circ}$ C,扫描方式选择SCAN模式进行定性分析,离子碎片的扫描范围为35~500 *m/z*。溶剂延迟时间为1.5 min。定量分析时质谱扫描方式设为SIM模式。

1.4.3 挥发性成分的定性、定量分析

样品通过GC-MS进行分析,将特征离子峰和保留指数与标准品、挥发性成分谱库(NIST08、NIST08s、FFNSC1.3)以及参考文献进行对照后定性。其中,保留指数运算借鉴Kratz和Vandendoo^[14]的方法: $RI_x = 100n + 100[t(i) - t(n)] / [t(n+1) - t(n)]$ 进行计算,其中RI_x为待测定成分的保留指数,t(i)为待测成分的调整保留时间,t(n)表示具有n个碳原子数的正构烷烃的调整保留时间,t(n+1)表示具有n+1个碳原子数的正构烷烃的调整保留时间,平行试验一组三次。对于2-甲基呋喃和顺式-3-己烯醇等21种成分通过标准曲线定

量,其余 16 种成分通过内标环己酮进行定量(SIM 模式,内标法,内标物环己酮,特征碎片为 55)。

1.4.4 挥发性成分的感官评价

根据 ISO 8589 标准和相关文献^[13,15]方法为参考对速溶乌龙茶粉及β-葡萄糖苷酶处理的速溶乌龙茶粉进行感官评价分析,选取青草香、花香、甜香、果香和焦糖香为作为感官评价的指标。

1.4.5 挥发性成分香气强度值的计算

香气强度值(OAVs)的计算公式:香气强度值(OAVs)=嗅感成分浓度/阈值。

1.4.6 统计分析

显著性分析和主成分分析通过 Excel 2013 和 SPSS 19.0 软件进行分析完成。

2 结果与讨论

2.1 β-葡萄糖苷酶处理速溶乌龙粉的挥发性

成分定性分析

对速溶乌龙粉及其经β-葡萄糖苷酶处理后的挥发性成分进行 GC-MS 分析,得到挥发性成分的总离

子流图(如图 1),然后依据相似度检索、特征离子碎片分析和标准品对比以及参照相关文献,共鉴定出 37 种挥发性成分(如表 1),其中呋喃类 4 种,醛类 5 种,醇类 9 种,酯类 4 种,烯烃类 11 种和其它类 4 种。醇类和烯烃类占总挥发性成分的 54%,为主要组成部分,醛类次之。由此可知,醇类、萜烯类、醛类为主要挥发性成分。

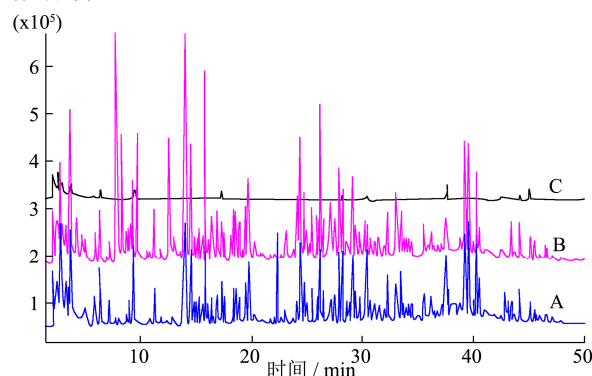


图 1 速溶乌龙茶粉水溶液、酶处理样品及β-葡萄糖苷酶溶液挥发性物质的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram (TIC) of the volatiles in instant oolong tea infusion (A), the enzyme treated sample (B) and β-glucosidase solution (C)

表 1 速溶乌龙茶粉水溶液及β-葡萄糖苷酶处理后样品中挥发性成分的鉴定及标准曲线

Table1 Identification and standard curves of volatile compounds in instant oolong tea infusion and the β-glucosidase treated sample

序号	名称	RIx ^a	RIx ^b	CI	标准曲线	R ²	范围/(μg/L)	鉴定依据
1	2-甲基呋喃	-	608	82 82 53	Y=0.75035X-0.07053	0.9941	31.25-2000	MS P ^[16] Std
2	3-甲基丁醛	-	653	44 86 58	SCIS			MS P ^[16]
3	2-甲基丁醛	-	663	41 86 58	SCIS			MS P ^[16]
4	2-乙基呋喃	-	705	81 96 53	Y=1.03561X-0.19189	0.9942	125-2000	MS P ^[16] Std
5	3-甲基丁醇	-	736	55 88 70	SCIS			MS P
6	反,反-3,5-庚二烯-2-酮	803	-	95 110 67	SCIS			TI MS
7	N-吡啶	814	812	80 95 95	Y=4.02069X-0.12217	0.9972	31.25-2000	MS P ^[17] Std
8	顺式-3-己烯醇	853	843	41 100 67	Y=0.25382X-0.00530	0.9998	31.25-2000	MS P ^[18] Std
9	己醇	868	861	56 69 102	Y=1.10429X-0.08677	0.9906	62.5-2000	MS P ^[17] Std
10	2-正丁基呋喃	893	901	81 124 53	SCIS			MS P ^[18] Std
11	2-庚醇	903	908	45 116 83	SCIS			MS P ^[18] Std
12	3,5-二甲基苯酚	935	-	122 79 43	Y=8.525192X-0.3394775	0.9982	31.25-2000	TI MS Std
13	苜烯	947	953	93 136 121	SCIS			MS P
14	苯甲醛	960	966	106 77 51	Y=0.81939X-0.02295	0.9973	125-2000	MS P ^[18] Std
15	2-戊基呋喃	993	993	81 138 53	Y=3.36386X-0.09217	0.9921	31.25-2000	MS P ^[18] Std
16	α-萜品烯	1017	1021	93 136 121	Y=1.96925X-0.03151	0.999	31.25-2000	MS P ^[18] Std
17	伞花烃	1025	1028	119 134 91	Y=5.80112X-0.12241	0.996	31.25-2000	MS P ^[18] Std
18	柠檬烯	1028	1029	68 136 93	SCIS			MS P ^[18] Std
19	2-乙基己醇	1032	1030	57 130 70	SCIS			MS P

转下页

接上页

20	顺式- β -罗勒烯	1039	1038	93 136 79	SCIS			MS P
21	反式- β -罗勒烯	1049	1048	93 136 79	Y=0.07390X-0.00162	0.9997	24.69-1580	MS P ^[18] Std
22	γ -萜品烯	1059	1062	93 136 77	Y=2.30958X-0.07204	0.995	31.25-2000	MS P ^[18] Std
23	辛醇	1074	1072	56 41 130	Y=15.11844X-1.153449	0.9955	125-2000	MS P ^[18] Std
24	萜品油烯	1089	1086	93 136 121	Y=3.29594X-0.18725	0.9983	31.25-2000	MS P ^[14] Std
25	芳樟醇	1101	1104	71 154 93	Y=22.88797X-1.70438	0.9955	125-2000	MS P ^[18] Std
26	壬醛	1106	1107	41 142 71	Y=4.35464X-0.12694	0.9977	31.25-2000	MS P ^[18] Std
27	壬醇	1175	1175	56 144 70	SCIS			MS P ^[18]
28	己酸丁酯	1194	1192	56 172 99	SCIS			MS P
29	水杨酸甲酯	1196	1197	120 152 92	Y=1.07835X-0.05296	0.9969	62.5-2000	MS P ^[18] Std
30	癸醛	1208	1208	119 57 156	Y=0.00550X+0.00671	0.9981	62.5-2000	MS P ^[18] Std
31	2-甲基丁酸己酯	1239	1239	103 186 57	SCIS			MS P
32	香叶醇	1258	1253	69 154 41	Y=0.05627X-0.00329	0.9959	125-2000	MS P ^[18] Std
33	己酸己酯	1389	1390	43 200 117	Y=4.35633X-0.33708	0.9944	62.5-2000	MS P ^[18] Std
34	长叶烯	1409	1417	161 41 204	SCIS			MS P ^[18]
35	α -雪松烯	1417	1410	119 204 93	SCIS			MS P
36	α -法尼烯	1512	1505	93 204 41	SCIS			MS P ^[18]
37	2,4-二叔丁基对苯酚	1517	1513	191 206 57	SCIS			MS P

注: 保留指数为 Rtx-5MS 色谱柱结果, RIx^a 是本研究测定值, RIx^b 为文献报道的数值, SCIS 为内部标准曲线来估计的浓度变化, Std 为标准品对照作为鉴定依据, MS 为质谱库 (NIST08, NIST08s, FFNSC 1.3) 搜索结果作为鉴定依据, TI 代表成分暂时依靠数据库检索鉴定, P 表示参考文献, P^[n] 表示第 n 篇参考文献, 未标明的 P 均参考此网站: <http://www.flavornet.org/flavornet.html>, nd 为未检测到的成分。

2.2 β -葡萄糖苷酶处理速溶乌龙粉的挥发性

成分定量分析

按 1.4.3 所述方法, 根据各成分峰面积 (图 1) 及标准曲线 (表 1) 进行定量分析, 结果如表 2 所示。

从表 2 可知, 速溶乌龙茶粉水溶液中鉴定出了 26 种挥发性成分, 包括醛类 4 种、醇类 1 种、烯炔类 11 种、酯类 2 种、呋喃类 4 种及其他类化合物 4 种; β -葡萄糖苷酶处理速溶乌龙茶粉水溶液中鉴定出了 35 种挥发性成分, 包括醛类 5 种、醇类 9 种、烯炔类 9 种、酯类 4 种、呋喃类 4 种及其他类化合物 4 种。结果表明速溶茶粉挥发性成分以烯炔类为主, 而酶处理后以醇类、烯炔类和醛类为主, 该结果与周玲^[3]所研究的乌龙茶挥发性成分以萜烯类、酯类和醇类为主相似。速溶茶粉主要挥发性成分为癸醛、反- β -罗勒烯、 α -法尼烯、2-甲基呋喃和 2-乙基呋喃, 与之前学者^[19,20]报道的乌龙茶主要挥发性成分橙花叔醇、茉莉酮酸甲酯、茉莉内酯、吲哚和法尼烯对比相差较大, 其原因可能是速溶茶粉加工过程中发生氧化、缩合、聚合和基团转移等造成速溶茶粉挥发性成分和原茶叶挥发性

成分的差异^[9,21]; 与靳巧丽等人^[22]所报道的速溶乌龙茶粉主要挥发性成分芳樟醇、反式- β -罗勒烯、反式芳樟醇氧化物、顺式芳樟醇氧化物以及 Zhang 等人^[13]所报道的速溶乌龙茶粉主要挥发性成分 3, 5-二甲基苯酚、3, 7-二甲基-1, 5, 7-辛三烯-3-醇、2-甲基呋喃、辛醛对比也不一致, 其原因可能是不同的速溶茶粉生产工艺会导致挥发性成分的差异。

β -葡萄糖苷酶处理后速溶乌龙茶粉主要挥发性成分为顺式-3-己烯醇、香叶醇、苯甲醛、癸醛、反式- β -罗勒烯、2-甲基呋喃、2-乙基呋喃和 2, 4-二叔丁基苯酚。酶处理后增加的挥发性成分有醇类、醛类和酯类, 醇类总含量从 33.07 $\mu\text{g/L}$ 增加到 22807.5.9 $\mu\text{g/L}$, 其中顺式-3-己烯醇 (0 vs 15416.97 $\mu\text{g/L}$) 和香叶醇 (0 vs 6542.42 $\mu\text{g/L}$); 醛类含量增加了 6381.47 $\mu\text{g/L}$, 其中苯甲醛 (0 vs 707.32 $\mu\text{g/L}$) 和癸醛 (41824.02 vs 47555.64 $\mu\text{g/L}$); 酯类含量增加了 405.47 $\mu\text{g/L}$, 其中水杨酸甲酯 (0 vs 268.81 $\mu\text{g/L}$), 该结果表明 β -葡萄糖苷酶作用于速溶乌龙茶粉后挥发性成分发生变化主要和糖苷类前体有关, 目前从茶叶中分离出 20 多种糖苷, 大多数为二糖苷和单糖苷, 其中单糖苷以 β -葡萄糖糖苷为主^[23]。醇类成分中顺式-3-己烯醇的前体为 β -葡萄

糖糖苷和 β -樱草糖苷;香叶醇的前体为 β -葡萄糖糖苷、 β -樱草糖苷和香叶基- β -巢菜糖苷^[6],因此,在 β -葡萄糖糖苷酶的作用下可以生成顺式-3-己烯醇和香叶醇,这与文献^[24]的报道一致;醛类成分的变化与文献^[25,26,27]的报道相一致,有学者利用黑曲霉胞外酶处理速溶绿茶粉后苯甲醛增加,并且已有研究表明黑曲霉胞外酶中含有 β -葡萄糖糖苷酶,据相关文献报道苯甲醛前体为野黑樱苷,糖基部分为 β -葡萄糖糖苷,所以在 β -葡萄糖糖苷酶作用下可释放出苯甲醛;酯类成分的变化与文献

^[12,28]一致,其前体为 β -樱草糖苷,经 β -葡萄糖糖苷酶处理后水杨酸甲酯、香叶醇和顺式-3-己烯醇含量显著增加。此外,醇类成分中还增加了己醇、2-庚醇、2-甲基己醇、辛醇和壬醇,其中己醇从0增加到了476.1 $\mu\text{g/L}$,这与文献^[29]的研究一致,经 β -葡萄糖糖苷酶处理后,风味前体成分可以释放己醇、正丁醇和顺式-3-己烯醇。综合比较上述几类香气成分的变化,在 β -葡萄糖糖苷酶的作用下,速溶乌龙茶粉的挥发性成分及含量具有显著性增加。

表2 速溶乌龙茶粉水溶液以及 β -葡萄糖糖苷酶处理后样品挥发性成分定量表Table 2 Quantitative determination of volatile components of instant oolong tea infusion and the β -glucosidase treated sample

序号	分类	名称	单位: $\mu\text{g/L}$	
			OIOT	EIOT
1	醛类	3-甲基丁醛	99.55 \pm 4.61 ^a	73.23 \pm 2.81 ^b
2		2-甲基丁醛	128.16 \pm 9.92 ^a	91.44 \pm 9.62 ^b
3		苯甲醛	nd	707.32 \pm 86.36 ^a
4		壬醛	74.86 \pm 3.72	80.33 \pm 5.80
5		癸醛	41824.02 \pm 3091.25 ^a	47555.64 \pm 195.67 ^b
6	醇类	3-甲基丁醇	nd	95.24 \pm 11.10 ^a
7		顺式-3-己烯醇	nd	15416.97 \pm 1646.12 ^a
8		己醇	nd	476.14 \pm 29.32 ^a
9		2-庚醇	nd	61.26 \pm 16.48 ^a
10		2-乙基己醇	nd	47.61 \pm 3.65 ^a
11		辛醇	nd	30.29 \pm 0.61 ^a
12		芳樟醇	33.07 \pm 0.12	34.85 \pm 0.92
13		壬醇	nd	103.26 \pm 9.92 ^a
14		香叶醇	nd	6542.43 \pm 864.81 ^a
15		酯类	己酸丁酯	73.14 \pm 4.51 ^a
16	2-甲基丁酸己酯		545.75 \pm 14.31	603.04 \pm 64.42
17	己酸己酯		nd	87.75 \pm 4.13 ^a
18	烯烴类	水杨酸甲酯	nd	268.81 \pm 8.27 ^a
19		茨烯	34.33 \pm 2.36 ^a	nd
20		柠檬烯	639.82 \pm 12.16	674.44 \pm 61.51
21		α -蒎品烯	56.92 \pm 1.51	61.76 \pm 3.12
22		顺式- β -罗勒烯	109.76 \pm 21.51 ^a	204.04 \pm 4.57 ^b
23		反式- β -罗勒烯	2215.26 \pm 168.61	2469.75 \pm 70.62
24		γ -蒎品烯	51.74 \pm 4.92 ^a	43.5 \pm 0.51 ^b
25		蒎品油烯	51.95 \pm 0.61 ^a	52.40 \pm 3.14 ^b
26		长叶烯	34.36 \pm 1.12 ^a	44.72 \pm 2.90 ^b
27		α -雪松烯	34.76 \pm 0.21 ^a	nd
28		α -法呢烯	1344.01 \pm 37.74 ^a	1904.52 \pm 29.87 ^b
29	伞花烴	19.13 \pm 2.46	18.22 \pm 1.37	

转下页

接上页

30	呋喃类	2-甲基呋喃	1048.46±23.72 ^a	958.47±82.11 ^b
31		2-乙基呋喃	866.39±5.10	715.52±31.96
32		2-正丁基呋喃	35.53±3.51 ^a	51.15±6.60 ^b
33		2-戊基呋喃	370.92±46.86	397.94±10.11
34	其他	N-吡啶	69.86±5.30	62.73±4.51
35		3, 5-二甲基苯酚	187.10±5.13	195.26±3.22
36		2,4-二叔丁基对苯酚	638.91±6.64 ^a	979.46±34.15 ^b
37		反, 反-3,5-庚二烯-2-酮	107.45±0.42	107.34±7.30

注: OIOT 表示速溶乌龙茶粉水溶液, EIOT 表示 β -葡萄糖苷酶处理速溶乌龙茶粉水溶液, nd 为没有检测到的挥发性成分, 每一行中, 不同的字母 (a, b) 代表数值间存在着显著性差异 ($p < 0.05$)。

2.3 感官评价

茶的挥发性成分之间以及挥发性成分与非挥发性成分之间都存在复杂的相互作用, 仅通过香气成分的含量以及香气成分的贡献率对茶的香气作出评价是不够的。为此, 依照 1.4.4 的方法对样品进行感官分析, 结果如表 3。速溶乌龙茶粉水溶液以甜香和焦糖香为主, 经过 β -葡萄糖苷酶处理后, 青草香、花香、果香

显著增强, 而焦糖香大幅度降低, 整体香味以青草香、花香、果香为主, 此结果与文献^[13]的报道相似。其原因可能是 β -葡萄糖苷酶与茶粉中糖苷类前体发生反应, 促进了花香、青草香和果香挥发性成分的释放, 例如顺式-3-己烯醇、苯甲醛、水杨酸甲酯等, 从而使速溶乌龙茶在加工过程中产生的不良风味得到改善, 焦糖香显著减少, 也可能是因为青草香、花香和果香的增加掩盖了焦糖香, 使得整体香气更加柔和。

表 3 速溶乌龙茶粉水溶液以及 β -葡萄糖苷酶处理后样品感官评价表

Table 3 Sensory evaluation of instant oolong tea infusion and the β -glucosidase treated sample

项目	花香	青草香	甜香	果香	焦糖香
OIOT	3.52±0.89 ^a	3.77±1.20 ^a	5.42±0.65 ^a	2.97±0.91 ^a	6.57±0.90 ^b
EIOT	6.31±1.32 ^b	7.14±1.13 ^b	5.97±0.81 ^a	6.54±1.23 ^b	3.82±1.15 ^a

注: 每一行中, 不同的字母 (a, b) 代表数值间存在着显著性差异 ($p < 0.05$)。

为进一步分析酶处理后速溶乌龙茶粉水溶液整体香气的变化, 对花香、青草香、甜香、果香和焦糖香进行主成分分析, 其结果如图 2 所示。

样品主成分分析散点图来看 (图 2b), 两者之间存在显著差异, 此结果进一步表明, β -葡萄糖苷酶处理后速溶乌龙茶粉水溶液的香气得到显著改善, 可将其应用于茶饮料等产品生产的前处理环节中, 提高相关产品的风味。

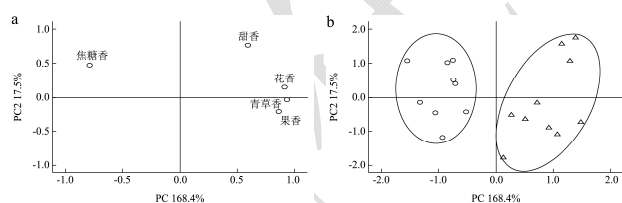


图 2 感官评价的主成分及得分散点图

Fig.2 Principal components and scatter plot of sensory evaluation scores

注: a 为 PC 风味指标图, b 为 PC 得分散点图。其中, Δ 代表速溶乌龙茶粉水溶液; \circ 代表 β -葡萄糖苷酶处理速溶乌龙茶粉水溶液。

由图 2a 可知, 主成分 1 (PC 1) 可以解释总变量的 68.5%, 与甜香、花香、青草香和果香的感官评价数值呈现正相关, 与焦糖香数值呈现负相关。主成分 2 (PC 2) 可解释总变量的 17.5%, 与甜香和花香和焦糖香的感官评价数值呈现正相关, 与果香和青草香数值呈现负相关。从速溶乌龙茶粉水溶液和酶处理后的

2.4 香气强度值 (OAVs) 分析

为更直观反映速溶茶粉的香气结构, 参考相关文献已报道的阈值并结合 GC-MS 检测结果计算各挥发性成分的 OAVs, 如表 4 所示。 β -葡萄糖苷酶处理后香气强度总值为 2107.8, 比处理前增加了约 14%, 其中贡献较大的成分有顺式-3-己烯醇 (220.2)、香叶醇 (163.6)、3-甲基丁醛 (366.0)、2-乙基呋喃 (311.1) 和癸醛 (792.6), 占总香气强度的 88%。其中顺式-3-己烯醇和香叶醇有较低的阈值、较高的香气强度值, 赋予速溶乌龙茶粉青草香和玫瑰香, 这就进一步解释了感官评价中经 β -葡萄糖苷酶处理后的速溶乌龙茶粉具有更强的青草香和花香。这一结果与文献^[13,15]的报道基本相一致, 只是不同的速溶茶粉香气有一定的差异, 这主要是由于加工方式不同导致的差异。

表4 速溶乌龙茶粉水溶液以及 β -葡萄糖苷酶处理后样品香气强度值Table 4 Odor activity values of instant oolong tea infusion and β -glucosidase treated sample

序号	名称	阈值/($\mu\text{g/L}$)	OIOT	EIOT	气味特征
1	2-甲基呋喃	3500 ^[15]	0.3	0.3	清香味、青草味
2	3-甲基丁醛	0.2 ^[15]	497.5	366.0	麦芽味
3	2-甲基丁醛	1 ^[15]	128.0	91.0	可可味、杏仁味
4	2-乙基呋喃	2.3 ^[15]	376.7	311.1	清香味、青草味
5	顺式-3-己烯醇	70 ^[15]	nd	220.2	青草味
6	己醇	500 ^[15]	nd	1.0	树脂味、花香味、清香味
7	苯甲醛	750.9 ^[15]	nd	0.9	杏仁味、焦糖味
8	2-戊基呋喃	5.9 ^[15]	62.9	67.4	清香味、青草味
9	伞花烃	80 ^[15]	0.2	0.2	油味、树脂味
10	柠檬烯	10 ^[13]	64.0	67.4	柠檬、青草味
11	顺式- β -罗勒烯	200 ^[13]	0.5	1.0	辣味、烧焦味
12	反式- β -罗勒烯	200 ^[13]	11.1	12.3	辣味、烧焦味
13	辛醇	110 ^[13]	nd	0.3	花香味
14	萜品油烯	200 ^[13]	0.3	0.3	松木味
15	芳樟醇	10 ^[15]	3.3	3.5	花香味
16	壬醛	40 ^[15]	1.9	2.0	油脂味、橘子味、清香味
17	水杨酸甲酯	40 ^[15]	nd	6.7	薄荷味
18	癸醛	60 ^[15]	697.1	792.6	甜香味
19	香叶醇	40 ^[15]	nd	163.6	玫瑰香味
20	α -法呢烯	NA	-	-	木香味、甜香味

注: 阈值参考的是在水中的阈值, NA 表示没有搜索到的阈值, nd 为没有检测到的挥发性成分。

3 结论

通过 GC-MS 分析表明 β -葡萄糖苷酶处理前后速溶乌龙茶粉水溶液共鉴定出 37 种挥发性成分, 其中速溶乌龙茶粉水溶液中鉴定出 26 种, β -葡萄糖苷酶处理的样品中鉴定出 35 种。经过 β -葡萄糖苷酶处理后, 顺式-3-己烯醇、己醇、香叶醇、苯甲醛和水杨酸甲酯等成分的含量显著增加; 青草香、花香、果香显著增强, 而焦糖香大幅度降低; 顺式-3-己烯醇和香叶醇的香气强度值大幅度增加。该研究结果表明, β -葡萄糖苷酶可用于处理速溶茶粉水溶液, 从而提高茶叶饮料、茶糕点等产品的风味。

参考文献

- [1] 朱荫, 杨婷, 施江, 等. 西湖龙井茶香气成分的全二维气相色谱-飞行时间质谱分析[J]. 中国农业科学, 2015, 48(20): 4120-4146
ZHU Yin, YANG Ting, SHI Jiang, et al. Full two-dimensional gas chromatography-time of flight mass

spectrometry analysis of aroma components in west lake Long Jing tea [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(20): 4120-4146

- [2] 陈荣荣, 王根女, 张献忠, 等. 糖苷酶在茶叶增香及香气形成中的应用研究进展[J]. 香料香精化妆品, 2014, 5: 48-52
CHEN Rong-rong, WANG Gen-nyu, ZHANG Xian-zhong, et al. Advances in the application of glycosidase in the aroma and aroma formation of tea [J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2014, 5: 48-52
- [3] 周玲. 乌龙茶香气挥发性成分及其感官性质分析[D]. 西南大学, 2006
ZHOU Ling. Volatile constituents of oolong tea aroma and its sensory properties [D]. Southwest University, 2006
- [4] 王军. 速溶茶粉在茶饮料中应用的新趋势[J]. 中外食品, 2005, 12: 48-49
WANG Jun. New trends in the application of instant tea powder in tea beverages [J]. Food Global Industry, 2005, 12: 48-49
- [5] 朱旗, 施兆鹏, 任春梅. 干燥方法对速溶绿茶香气的影响[J].

- 中国茶叶加工,2001,2:18-20
- ZHU Qi, SHI Zhao-peng, RENG Chun-mei. Effect of drying method on the aroma of instant green tea [J]. China Tea Processing, 2001, 2: 18-20
- [6] HO Chi-tang, Zheng Xin, Li Shi-ming. Tea Aroma Formation [J]. Food Science and Human Wellness, 2015, 4(1): 9-27
- [7] WINTERHALTER Peter, SKOUROUMOUNIS George-k. Glycoconjugated aroma compounds: Occurrence, role and biotechnological transformation [J]. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, 1997, 55: 73-105
- [8] OGAWA Ken-ji, IJIMA Yasuyuki, GUO Wen-fei, et al. Purification of a beta-Primeverosidase concerned with alcoholic aroma formation in tea leaves (Cv. Shuixian) to be processed to oolong tea [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(3): 877-82
- [9] 陈会娟,李瑞利,童华荣.速溶茶生产加工中增香保香技术的研究进展[J].食品与发酵工业,2013,39(3):153-157
- CHEN Hui-juan, LI Rui-Li, TONG Hua-rong. Research progress on aroma-scenting and aroma-suppressing technology in instant tea production and processing [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(3): 153-157
- [10] YANG Zi-ying, BALDEMANN S, WATANABE N. Recent studies of the volatile compounds in tea [J]. Food Research International, 2013, 53(2): 585-599
- [11] 孙其富,梁月荣,陆建良. β -葡萄糖苷酶对绿茶汤香气的影响[J].茶叶,2007,33(4):211-213
- SUN Qi-fu, LIANG Yue-rong, LU Jian-liang. Effect of β -glucosidase on the aroma of green tea soup [J]. Tea, 2007, 33(4): 211-213
- [12] SU Er-zheng, XIA Tao, GAO Li-Ping, et al. Immobilization of β -glucosidase and its aroma-increasing effect on tea beverage [J]. Food and Bioproducts Processing 2010, 88(2), 83-89
- [13] ZHANG Liang-zhen, NI Hui, ZHU Yan-bing, et al. Characterization of aromas of instant oolong tea and its counterparts treated with two crude enzymes from *Aspergillus niger* [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2018, 42(2): e13500
- [14] VANDENDOOL Huug, KRATZ P-dec. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 1963, 11(C): 463-471
- [15] ZHU Jian-cai, CHEN Feng, WANG Ling-ying, 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
- [16] KIM Young-mok, GOODNER Kevin-l, PARK Jong-dae, et al. Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of camellia sinensis by oxidation during tea fermentation [J]. Food Chemistry, 2011, 129(4): 1331-1342
- [17] TONTUL Ismail, TORUN Mehmet, DINCER Cuneyt, et al. Comparative study on volatile compounds in turkish green tea powder: impact of tea clone, shading level and shooting period [J]. Food Research International, 2013, 53(2): 744-750
- [18] ZHANG Lei, ZENG Zhong-da, ZHAO Chun-xia, 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
- [19] 骆少君,濮荷娟,郭雯飞.不同品种乌龙茶香气的特征及其与品质等级的相关性[J].福建茶叶,1987,2:13-22
- LUO Shao-jun, PU He-juan, GUO Wen-fei. Characteristics of aroma of different varieties of oolong tea and their correlation with quality grade [J]. Fujian Tea, 1987, 2: 13-22
- [20] 叶乃兴.乌龙茶香气成分研究进展[J].福建茶叶,1988,2:26-27,19
- YE Nai-xing. Advances in research on aroma components of oolong tea [J]. Fujian Tea, 1988, 2: 26-27, 19
- [21] Xia Tao, Shi Si-quan, Wan Xiao-chun. Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion [J]. Journal of Food Engineering, 2006, 74(4): 557-560
- [22] 靳巧丽,姜泽东,倪辉,等.速溶乌龙茶粉挥发性成分的分析[J].现代食品科技,2015,7:372-379
- JIN Qiao-li, JIANG Ze-dong, NI Hui, et al. Analysis of volatile components in instant oolong tea powder [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 7: 372-379
- [23] 郑得林,谭俊峰,林智.茶叶中糖苷类香气前体的研究进展[J].热带作物学报,2012,33(9):1708-1713
- ZHANG De-lin, TAN Jun-feng, LIN Zhi. Advances in studies on glycoside aroma precursors in tea [J]. Chinese Journal of Tropical Crops Chin J Trop Crop, 2012, 33(9): 1708-1713
- [24] 屠幼英,童启庆,骆耀平,等.茶叶香气释放机理研究-龙井茶炒制过程中 β -葡萄糖苷酶和醇系香气的关系[J].茶叶,1999,1:20-23
- TU You-ying, TONG Qi-qing, LUO Yao-pin, et al. Study on the mechanism of tea aroma release-the relationship between β -glucosidase and alcohol aroma in Longjing tea [J]. Tea,

- 1999, 1: 20-23
- [25] ZHU Yan-bing, ZHANG Zhen-zhen, YANG Yuan-fan, et al. Analysis of the aroma change of instant green tea induced by the treatment with enzymes from *Aspergillus niger* prepared by using tea stalk and potato dextrose medium [J]. *Flavour & Fragrance Journal*, 2017, 32(6)
- [26] HERMAN J-pel, WINDER Johannes-H-de, DAVID B-archer, et al. Genome sequencing and analysis of the versatile cell factory *Aspergillus niger* [J]. *Nature Biotechnology*, 2007, 25(2): 221-231
- [27] GUO Wen-fei, SASAKI Noriko, FUKUDA Mitsunari, et al. Isolation of an aroma precursor of benzaldehyde from tea leaves (*Camellia sinensis* var. *sinensis* cv. *Yabukita*) [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1998, 62(10): 2052-2054
- [28] MOON Jae-hak, WATANABE Naoharu, IJIMA Yasuyuki, et al. Cis- and trans-linalool 3,7-oxides and methyl salicylate glycosides and (Z)-3-hexenyl beta-D-glucopyranoside as aroma precursors from tea leaves for oolong tea [J]. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 1996, 60(11): 1815-1819
- [29] 彭邦远, 罗昱, 张洪礼, 等. β -葡萄糖苷酶对刺梨汁香气成分的影响[J]. *中国酿造*, 2017, 36(7): 172-177
- PENG Bang-yuan, LUO Yu, ZHANG Hong-li, et al. Effect of β -Glucosidase on aroma components of prickly pear juice [J]. *China Brewing*, 2017, 36(7): 172-177