

基于滋味和香气成分结合化学计量法鉴别不同贮藏年份的康砖茶

乔小燕^{1,2,3,4}, 操君喜^{2,3}, 车劲⁵, 陈栋^{1,5}, 刘仲华^{1,4}

(1. 湖南农业大学茶学教育部重点实验室, 湖南农业大学, 湖南长沙 410128) (2. 广东省农业科学院茶叶研究所, 广东广州 510640) (3. 广东省茶树资源创新利用重点实验室, 广东广州 510640) (4. 国家植物功能成分利用工程技术研究中心, 湖南长沙 410128) (5. 广东省茶叶收藏与鉴赏协会, 广东广州 510640)

摘要: 本研究以不同贮藏年份康砖茶为试验材料, 测定其主要的滋味成分和香气成分, 初步明晰贮藏过程中滋味成分和香气成分的变化规律, 通过化学计量学方法, 客观地鉴别不同贮藏年份康砖茶的滋味特征和香气轮廓。结果表明: 康砖茶滋味和香气对贮藏时间有明显的响应。茶多酚、儿茶素组分、没食子酸、咖啡碱、可溶性总糖和葡萄糖含量在贮藏期1~10年间降低, 在之后的10~30年间增加。茶褐素和麦芽糖含量在贮藏期1~30年间显著增加 ($p < 0.05$)。构成香气轮廓的特征挥发性成分数量先减少后增加, 酯类和杂环类逐渐取代不饱和醛类、醇类和酚类成为康砖茶的重要赋香成分。基于贮藏期的康砖茶滋味特征和香气轮廓的变化规律, 滋味特征分为1~6年、10~15年和22~30年; 香气轮廓分为1~6年、10~22年和25~30年。贮藏期10年是滋味特征和香气轮廓从新茶向陈年老茶转变的转折点。因此, 基于滋味成分和香气成分结合化学计量学对不同贮藏年份康砖茶的品质特征进行鉴别是可行的, 滋味特征和香气轮廓的变化规律可作为康砖茶价值评价的重要依据。

关键词: 黑茶; 贮藏年份; 生化成分; 挥发性成分; 偏最小二乘判别分析 (PLS-DA)

文章编号: 1673-9078(2020)09-260-269

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.9.0178

Chemometric Discrimination of Different Aged Kang Brick Teas based on Tasty and Aroma Compounds

QIAO Xiao-yan^{1,2,3,4}, CAO Jun-xi^{2,3}, CHE Jin⁵, CHEN Dong^{1,5}, LIU Zhong-hua^{1,4}

(1. Key Laboratory of Tea Science of Ministry of Education, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

(2. Tea Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640, China)

(3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Tea Plant Resources Innovation & Utilization, Guangzhou 510640, China)

(4. National Research Center of Engineering Technologies for Utilization of Functional Ingredients from Botanicals, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

(5. Guangdong Tea Collection and Appreciation Association, Guangzhou 510640, China)

Abstract: To explore the change patterns of tasty and volatile components during storage, chemical components and volatiles were determined for different aged Kang brick teas selected as the experimental materials. The different aged Kang brick teas were differentiated based on chemical components and volatiles combined with chemometrics algorithms. Results showed that the content of components including tea polyphenols, catechins, gallic acid, caffeine, total soluble sugar and glucose, decreased during the first 10-year storage, but increased during the next storage period of 20 years. The contents of maltose and theabrownin significantly increased during the whole 30-year storage. The

引文格式:

乔小燕, 操君喜, 车劲, 等. 基于滋味和香气成分结合化学计量法鉴别不同贮藏年份的康砖茶[J]. 现代食品科技, 2020, 36(9): 260-269

QIAO Xiao-yan, CAO Jun-xi, CHE Jin, et al. Chemometric discrimination of different aged Kang brick teas based on tasty and aroma compounds [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(9): 260-269

收稿日期: 2020-02-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31600560); 广东省农村科技领域项目(2017A020208020); 国家茶叶产业技术体系项目(CARS1909B)

作者简介: 乔小燕(1982-), 女, 副研究员, 在读博士, 研究方向: 茶树种质资源鉴别、茶叶加工、功能成分研究

通讯作者: 刘仲华(1965-), 男, 博士, 教授, 中国工程院院士, 研究方向: 茶叶深加工及功能成分利用

amount of characteristic volatile components gradually decreased, and then increased during this period. Esters and heterocyclics gradually replaced unsaturated aldehydes, alcohols and phenols as important aroma components of Kang brick teas. According to the storage periods of Kang brick teas, the taste characteristics were divided into three patterns, including the period of 1~6 years, the period of 10~15 years and the period of 22~30 years. The stage of the aroma profile included the period of 1~6 years, the period of 10~22 years and the period of 25~30 years. Therefore, the 10th year during the storage was supposed to be the turning point in the conversion of the tasty and aroma from new teas to aged teas. It was feasible to employ chemometrics coupled with biochemical components and volatiles to identify aged Kang brick tea. Both of the flavor characteristics and aroma profile could be a reference to estimate the economic value of Kang brick tea.

Key words: dark teas; storage period; chemical components; volatiles; partial least squares discrimination analysis

黑茶作为六大茶类的一种,属后发酵茶。相比于其他茶类,黑茶可通过后熟作用提升品质,而且黑茶也可预防和缓减代谢综合征^[1,2]。21世纪以来,良好的仓储条件和一定年限内的黑茶被认为具有收藏价值,并被部分消费者视为“越陈越好”“越陈越贵”,导致市场上出现“以新充老”“以次充好”的不法现象,一定程度扰乱了市场秩序。因此,如何科学地辨别黑茶的仓储陈化年限,已经成为保障生产和消费者权益、规范市场监管、促进黑茶产业健康发展急需解决的问题。

已有研究表明,黑茶贮藏时间不同,茶叶的汤色、香气、滋味和叶底均有明显差异^[3-5]。黑茶中茶多酚、咖啡碱、儿茶素和游离氨基酸等重要的滋味成分随贮藏时间增加含量降低或增加^[6,7],并形成新的物质^[8]。陈年普洱茶(贮藏25年)中甲氧基苯含量最高^[9],随贮藏时间增加,以1,2,3-三甲氧基苯为主的杂氧类挥发性成分种类增加^[10],萜烯类在不同贮藏年份普洱茶中差异明显^[11]。化学计量学可将统计学与化学测量值相结合来进行模式识别^[12]。Deconinck等^[13]将色谱指纹图谱和化学计量学结合,成功区分未使用植物调节剂的目标植物,Qi等^[14]将挥发性成分与化学计量

学结合成功区分不同嫁接砧木的红茶香气。研究证实,黑茶贮藏时间与氨基酸、茶多酚、儿茶素和没食子酸等含量有显著相关性^[6]。上述研究结果表明将滋味成分和香气成分与化学计量学结合判别或区分不同贮藏年份黑茶品质特征成为可能。本研究以康砖茶为试验材料,分析贮藏期1~30年的康砖茶主要的滋味成分和香气成分,初步揭示了不同贮藏年份康砖茶在贮藏过程中滋味和香气成分的差异组分及其变化规律,通过PLS-DA方法鉴别不同贮藏年份康砖茶的滋味特征和香气轮廓。本研究结果对如何区分黑茶的新茶与老茶,科学判别其贮藏期具有一定借鉴意义。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

本试验于2016年12月~2017年5月开展,试验材料为康砖茶(编号分别为:YA1985-YA2015),由广州市雪域黑金茶业有限公司提供。参试茶样均从各年份批量商品茶的竹蔑包装中随机挑选,详细信息见表1。

表1 参试茶样目录

Table 1 The list of the experimental materials

生产年份	实际贮藏期/年	入库时间	数量/个	生产厂家	品牌
YA2015	1	2015	5	四川雅安茶厂	民族团结牌
YA2010	6	2010	5	四川雅安茶厂	民族团结牌
YA2006	10	2006	5	四川雅安茶厂	民族团结牌
YA2001	15	2006	5	四川雅安吉祥茶厂	民族团结牌
YA1993	22	2006	7	四川雅安茶厂	民族团结牌
TZ1990	25	2006	7	贵州桐梓茶厂	金龙牌
YA1985	30	2006	7	四川雅安茶厂	民族团结牌

儿茶素标准品:表没食子儿茶素没食子酸(EGCG)、儿茶素没食子酸(CG)、没食子儿茶素没食子酸(GCG)、表儿茶素没食子(ECG)、表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素(EGC)、儿茶素(C)、没食子儿茶素(GC)、没食子酸(GA)和咖啡碱,购自上海源叶生物科技有限公司。单双糖标准品:果糖、葡

萄糖、蔗糖和麦芽糖购于Sigma公司。

1.2 试验方法

1.2.1 康砖茶主要生化成分测定

水浸出物、游离氨基酸总量测定参照GB/T 8314-2013^[15]。可溶性总糖测定采用蒽酮比色法^[16]。茶

黄素、茶红素和茶褐素采用系统分析法^[16]。茶多酚和儿茶素组分待测液提取方法参照 GB/T 8313-2008^[17]，没食子酸、咖啡碱和儿茶素组分测定采用 HPLC，方法参照乔小燕等^[18]。对所有参试样品进行测定，每个样品三次平行重复。

1.2.2 康砖茶中单双糖测定

果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖采用 HPLC-ELSD 法。茶汤制备：称取 2.00 g 茶粉于圆底烧瓶中，加入 80 倍量的 80%乙醇，80 °C 回流提取 3 h，过滤；残渣用 80%乙醇重复提取 2 次，合并滤液浓缩并定容与 50 mL 容量瓶中，经过 0.45 μm 微孔滤膜，备用。HPLC-ELSD 检测条件：色谱柱为 Shodex NH2P-50-4E (4.6×250 mm, 5 μm)，检测器：蒸发光散射检测器 (ELSD)。流动相 B 为乙腈，流动相 A 为超纯水 B，洗脱梯度为 0~14 min 86% (B)；14~16 min 70% (B)；16~28 min 70% (B)；28~32 min 70% (B)。柱温：25 °C；流速：1 mL/min；进样体积：20 μL。ELSD 参数：雾化管温度为 30 °C，漂移管温度为 70 °C，氮气压力为 310.275 Pa。对所有参试样品进行测定，每个样品三次平行重复。

1.2.3 感官审评和色差值测定

感官审评按 GB/T 23776-2009 执行。采用百分制，将感官审评结果的 5 项因子（香气、滋味、汤色、外形和叶底）得分减去 90 分后所得数值作为该因子感官特征的赋值，香气特征赋值从 -10 到 5，其中根据青粗气由强到弱赋值 -10 到 0，木甜香从弱到强赋值 0 到 4，木甜药香赋值 5；滋味特征同香气特征一致。根据各项因子的赋值绘制雷达图。康砖茶汤色色差值测定方法参考黄华林等^[19]。选定 YA2015 为对照样品，测得色度值 $L^*=16.11$ ， $a^*=3.04$ ， $b^*=2.57$ 。用对照样品的色度值分别与其他贮藏年份康砖茶色度值作差，所得差值即为该样品的色差值。

1.2.4 康砖茶挥发性成分测定

挥发性成分测定采用 HS-SPME-GC/MS/MS。顶空固相微萃取 (HS-SPME) 条件参考 Qi 等^[14]。气相色谱与质谱 (GC/MS/MS) 条件：仪器为 Agilent 7890A-7000C (GC-MS)，毛细管柱为 DB-WAX IU (30 m×0.25 mm, 0.25 μm, Agilent, 美国)。载气为高纯氦气，流速为 1 mL/min。采取手动进样不分流模式，进样口温度为 250 °C，热解析 10 min，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 230 °C，保持 5 min。质谱条件：选用 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。GC/MS/MS 采集得到的数据处理方法参考陈维等^[20]。每个贮藏年份康砖茶取 3 个样品，每个样品进样 1 次。

1.2.5 数据分析

所有数据统计及计算均使用 Microsoft Excel 2013 分析，并且利用 SAS 20.0 统计软件进行 Duncan 多重比较分析；采用 Graphad Prism 8.0 软件绘图。PLS-DA 分析采用 Metabo Analyst 4.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst/faces/home.xhtml>)。

2 结果与分析

2.1 不同贮藏年份康砖茶中常规成分分析

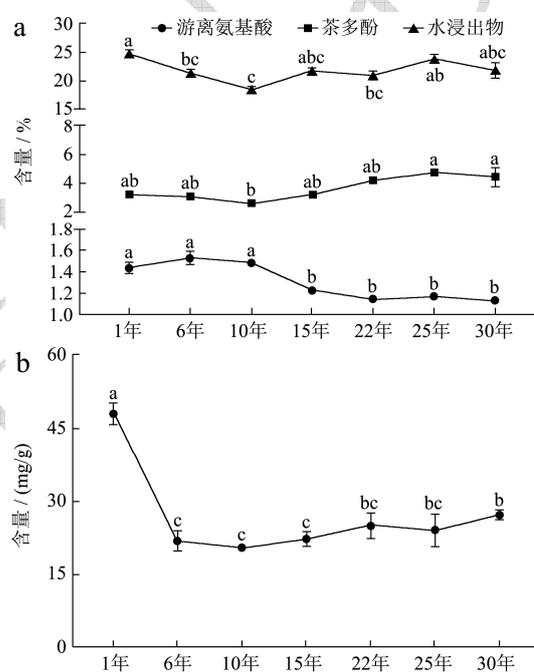


图1 康砖茶主要生化成分分析

Fig.1 Chemical components analysis for Kang brick teas

注：同指标不同字母表示差异性显著， $p < 0.05$ ，下同。

由图1可知，康砖茶在30年的贮藏过程中，常规生化成分含量表现出明显的阶段性变化特征。在贮藏期1~10年间，水浸出物和咖啡碱含量显著降低，茶多酚含量降低不显著；游离氨基酸总量差异不显著 ($p < 0.05$)，平均含量保持在1.44%~1.51%。与薛晨等^[6]对2011~2007年（贮藏5年）普洱熟茶中水浸出物和茶多酚的分析结果一致，普洱熟茶中咖啡碱和游离氨基酸含量增加，与贮藏10年青砖茶^[7]的水浸出物、茶多酚、游离氨基酸和咖啡碱含量变化趋势不一致，这可能与不同的黑茶类产品的毛茶原料等级和代表性样本数量不同所致，本研究中贮藏期15年样品含梗量相对较少，其余6个贮藏期样品原料等级基本一致，代表性样品数量基本可反映贮藏过程中水浸出物、茶多

酚、游离氨基酸和咖啡碱含量的变化规律。贮藏期 10~22 年, 康砖茶的水浸出物、茶多酚和咖啡碱含量不显著增加, 而游离氨基酸总量则显著降低 ($p < 0.05$)。当贮藏期 25~30 年, 康砖茶中水浸出物、茶多酚、咖啡碱和游离氨基酸差异不显著 ($p < 0.05$)。

2.2 不同贮藏年份康砖茶儿茶素和 GA 分析

由表 2 可知, 康砖茶在贮藏期 1~10 年间, 儿茶素组分显著降低。与贮藏 5 年的普洱茶熟茶^[21]和贮藏 10 年青砖茶^[7]的研究结果基本一致, EGC、C、EGCG、ECG、GCG 和 EC 含量降低。当贮藏期 10~15 年时, 非酯型儿茶素含量变化最为显著, GC、C、EGC 和 EC 在整个贮藏期含量达到最低水平; 酯型儿茶素中 ECG 的变化最显著。在贮藏期 22~30 年间, EGCG、ECG、CG 和 EGC 含量有所增加, 但差异不显著; GC

和 CG 含量增加不显著; GCG 和 C 显著增加。GA 是康砖茶中重要的滋味成分, 其含量高于儿茶素组分。GA 在贮藏 5 年的普洱茶熟茶^[21]和贮藏 10 年青砖茶^[7]中含量增加。本研究中, GA 在贮藏期 1~15 年间含量先降低后增加, 但变化差异不显著, 在贮藏期 15~30 年样品中显著增加 ($p < 0.05$)。微生物对黑茶贮藏过程中品质的形成有非常重要的作用, 曲霉菌是康砖茶贮藏过程中主要菌群之一^[22], 曲霉菌可分泌单宁酶降解单宁形成 GA^[23], 单宁酶也可将酯型儿茶素水解为非酯型儿茶素和 GA^[24]。通过对不同贮藏期康砖茶真菌群落优势种群丰度与 GA 的相关性分析表明, 曲霉菌 *Aspergillus halophilicus*, *Aspergillus fumigatus* 种群丰度与 GA 含量有极显著正相关, *Aspergillus halophilicus* 是贮藏期 30 年康砖茶的优势种群 (未发表数据)。因此推测康砖茶贮藏过程中曲霉菌与 GA 含量的变化有关。

表 2 康砖茶儿茶素组分含量和 GA 分析 (mg/g 干重)

Table 2 Catechins and GA analysis for Kang brick teas

贮藏期	GA	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG
1 年	38.92±3.16 ^{bc}	11.66±0.34 ^a	4.52±0.31 ^a	0.59±0.17 ^b	1.74±0.09 ^a	13.37±9.53 ^a	3.90±0.21 ^a	1.35±0.08 ^a	3.14±0.10 ^a
6 年	19.25±2.61 ^c	8.34±0.59 ^b	2.21±0.27 ^b	0.21±0.04 ^b	0.50±0.06 ^b	8.97±0.62 ^b	1.25±0.16 ^b	0.21±0.06 ^b	2.06±0.25 ^b
10 年	23.25±1.51 ^c	-	-	0.24±0.00 ^b	<0.006	2.73±0.11 ^c	0.35±0.40 ^d	<0.003	1.61±0.03 ^c
15 年	35.82±1.20 ^{bc}	-	1.78±0.29 ^c	<0.003	<0.006	4.94±1.09 ^c	0.27±0.08 ^d	<0.003	1.59±0.23 ^c
22 年	46.03±7.91 ^{ab}	6.41±0.02 ^c	2.00±0.68 ^c	0.40±0.24 ^b	0.10±0.10 ^c	5.45±2.27 ^c	<0.033	0.41±0.32 ^b	1.64±0.13 ^c
25 年	58.65±17.62 ^a	6.42±0.29 ^c	2.13±1.02 ^c	0.46±0.39 ^b	0.42±0.37 ^b	5.84±3.70 ^c	0.25±0.08 ^d	0.20±0.16 ^b	1.67±0.24 ^c
30 年	64.06±18.27 ^a	6.67±0.41 ^c	1.85±0.39 ^c	0.56±0.35 ^a	0.07±0.12 ^c	5.24±1.88 ^c	0.49±0.45 ^c	0.27±0.16 ^b	1.69±0.13 ^c

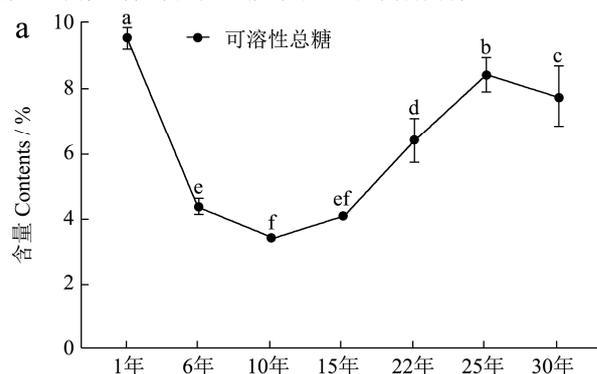
注: GA-没食子酸; GC-没食子儿茶素; EGC-表没食子儿茶素; C-儿茶素; EC-表儿茶素; EGCG-表没食子儿茶素没食子酸; GCG-没食子儿茶素没食子酸; ECG-表儿茶素没食子; CG 儿茶素没食子酸; 同列数据不同字母表示在 $p=0.05$ 水平上有显著性差异。

2.3 不同贮藏年份康砖茶可溶性糖总糖和单双糖分析

由图 2 可知, 康砖茶中可溶性总糖含量在贮藏期 1~10 年间显著降低 ($p < 0.05$), 在 10~30 年显著增加 ($p < 0.05$), 以贮藏期 10 年样品中含量最低 (3.46%)。康砖茶中单糖含量低于双糖, 单双糖含量在整个贮藏过程中呈增加的趋势。在贮藏期 1 年样品中单糖含量与双糖最接近, 分别为 0.89 mg/g 和 1.10 mg/g。贮藏期 10 年样品中单双糖总含量为 2.17%, 占可溶性总糖含量的 62.71%, 推测单双糖的降低可能是导致贮藏期 10 年康砖茶可溶性糖含量较低的主要原因。

葡萄糖含量在贮藏期 1~6 年间显著降低, 贮藏期 6~25 年样品间差异不显著, 贮藏期 30 年样品中显著增加 ($p < 0.05$)。果糖含量在贮藏期 1~25 年样品间差异不显著 ($p < 0.05$), 贮藏期 30 年样品中增加到 0.55 mg/g。蔗糖含量在贮藏期 1~6 年间显著增加到 3.12

mg/g, 在贮藏期 10 年样品中显著降低 ($p < 0.05$); 麦芽糖在 1~10 年差异不显著。麦芽糖和蔗糖含量在贮藏期 10~25 年间, 蔗糖差异不显著, 而麦芽糖则显著增加 ($p < 0.05$)。李栋玉等通过傅立叶近红外光谱技术分析不同贮藏期普洱茶 (贮藏 1 年、3 年、4 年、5 年) 的光谱信息发现, 普洱茶在贮藏过程中纤维素、半纤维素、果胶等大分子物质减少, 低分子量糖增加^[25]。推测本研究中蔗糖含量的增加可能与纤维素、半纤维素、果胶等大分子的碳水化合物降解有关。



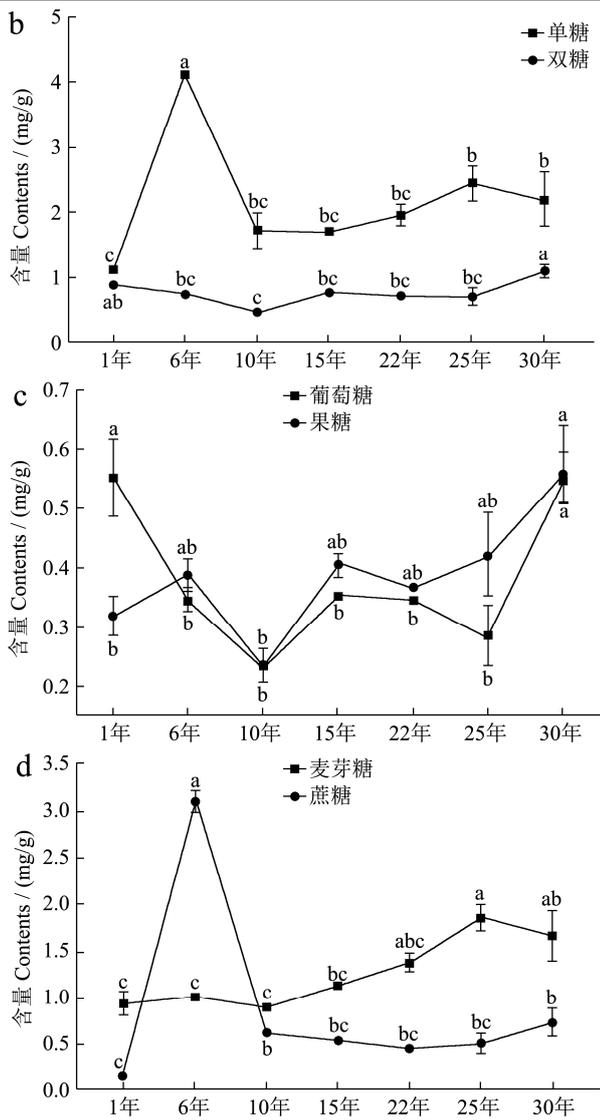


图2 康砖茶可溶性总糖和糖组分分析

Fig.2 The content analysis of total soluble sugar and its ingredients analysis for Kang brick teas

2.4 不同贮藏年份康砖茶茶色素分析

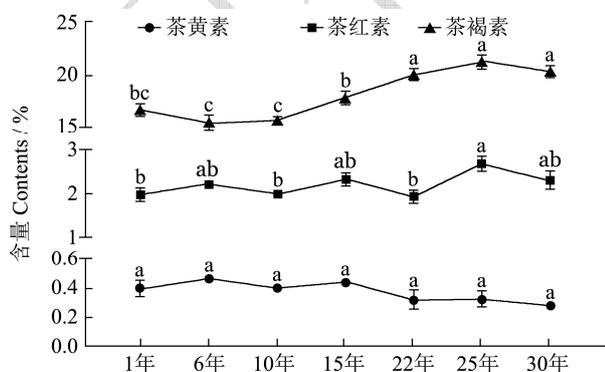


图3 康砖茶茶黄素、茶红素和茶褐素分析

Fig.3 The contents analysis of theaflavins, thearubigins and theabrownine analysis for Kang brick teas

由图3可知,在康砖茶30年的贮藏过程中,茶红

素含量总体呈增加的趋势;茶黄素呈降低的趋势,含量保持在0.28%~0.46%之间。与茯砖茶(2008、1985和1952)^[26]和康砖茶^[27](贮藏期0.5年、6年和11年)中茶黄素和茶红素含量变化趋势基本一致。茶褐素是黑茶中重要的色素类物质。在茯砖茶^[26]、康砖茶^[27]和青砖茶^[7]中茶褐素增加,但本研究中茶褐素在贮藏期1~10年含量降低,且差异不显著,贮藏期10~30年茶褐素含量显著增加($p < 0.05$)。本研究中贮藏期1~10年康砖茶中茶褐素含量变化规律与前人的研究结果不同,与参试的黑茶品类原料等级和仓储条件不同有关,导致茶褐素在贮藏过程中的转化效率出现差异。加之不同试验所采用的样本数量不同也会对茶褐素含量变化规律的揭示产生影响。

2.5 不同贮藏年份康砖茶感官审评结果和色

差值分析

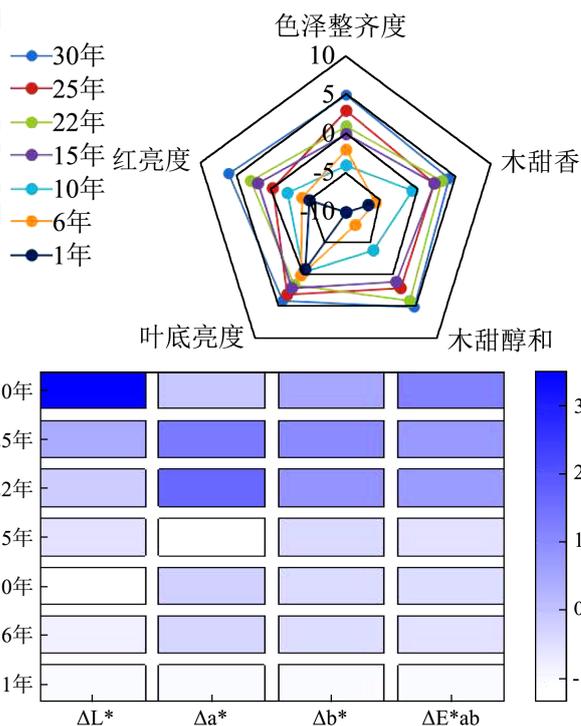


图4 康砖茶感官审评结果雷达图和色差值热图

Fig.4 Radar plot based on sensory evaluation and color value heatmap for Kang brick teas

根据感官审评结果对5项因子进行赋值,根据香气青粗气由强到弱赋值-10到0,木甜香从弱到强赋值0到4,木甜药香赋值5;滋味特征赋值同香气一致。由雷达图可知(图4),在贮藏过程中,康砖茶香气和滋味中的青粗气消失或转化,木甜香、滋味醇和度均增加;叶底亮度和汤色红亮度缓慢增加;外形色泽和整齐度有所提升。康砖茶茶汤色差值热图表明,贮藏

过程中康砖茶 ΔE^*ab 、 Δb^* 增加。 Δa^* 在贮藏期 1~10 年间增加, 贮藏期 22~30 年间 Δa^* 降低, 但贮藏期 22~30 年样品 Δa^* 高于贮藏期 1~15 年。李适等^[4]认为茯砖茶在 1~31 年的贮藏过程中汤色 b^* 和 a^* 均增加, 与本研究结果基本相同, 康砖茶 Δa^* 和 Δb^* 在整个贮藏过程中增加。 ΔL^* 在贮藏期 1~10 年间降低, 但贮藏期 10~30 年间 ΔL^* 增加; ΔL^* 在贮藏期 10 年最低, 在贮藏期 30 年最高。

由上可知, 贮藏时间对香气和滋味的影响最为明显。贮藏期 10 年是康砖茶香气和滋味的转折点, 康砖茶香气出现木甜香, 滋味中青粗气部分消失。与李适等^[4]对不同年份茯砖茶感官审评结果基本一致, 贮藏 8 年左右, 香气中青粗气基本被转化, 陈香显。从贮藏期 15 年开始, 康砖茶香气和滋味逐步与贮藏期 30 年接近, 表现出木甜香或干果甜香, 滋味浓醇。

2.6 不同贮藏年份康砖茶香气成分分析

对 7 个贮藏年份康砖茶检测到的挥发性成分相对含量进行标准化和差异显著性成分筛选, 方法参考陈维等^[20], 共得到 42 个差异挥发性成分, 其线性保留指数、定性及定量结果见表 3, 总离子色谱图如图 5 所示。由表 3 可知, 从挥发性成分的化学结构上看, 42 种挥发性成分中有醛类 10 种、醇类 8 种、酮类 6 种、酚类 4 种、含氮化合物 4 种、醚类 1 种、碳水化合物 3 种、酯类 3 种和杂氧类 3 种。不同贮藏年份康砖茶挥发性成分种类分别为 YA1985 23 种、TZ1990 22 种、YA1993 13 种、YA2001 14 种、YA2006 26 种、YA2010 31 种和 YA2015 29 种。辛醛、萘、3,4-二甲氧基甲苯、水杨酸甲酯、植酮和 1,2-二甲氧基-4-乙基苯等 6 种挥发性成分在康砖茶整个贮藏过程中均存在。

与酮类和醇类相比, 醛类和酚类一般香气阈值较低, 对香气轮廓的影响巨大。反-4-庚烯醛是贮藏期 1~6 年样品的特征挥发性成分。顺-2-庚烯醛在贮藏期 1~6 年样品中含量是贮藏期 25 年样品中的 5~9 倍; 愈创木酚在贮藏期 1~6 年样品含量是贮藏期 25~30 年样品的 2~10 倍。愈创木酚 (阈值 $9.5 \mu\text{g/L}$) 有辛辣味和烟熏味^[28]。反-4-庚烯醛 (阈值 $0.4 \mu\text{g/L}$) 有青草、脂香和奶香^[29]。顺-2-庚烯醛 (阈值 $13 \mu\text{g/L}$) 有木质香味^[30]。根据 3 种挥发性成分在康砖茶中的相对含量、香气阈值和香味推测, 反-4-庚烯醛、顺-2-庚烯醛和愈创木酚

可能是贮藏期 1~6 年样品中青粗气的主要赋香成分。

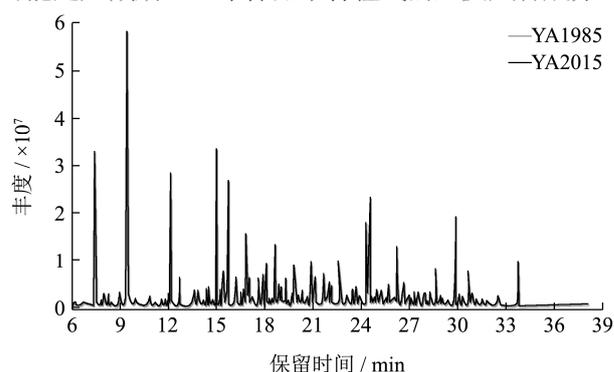


图 5 YA1985 和 YA2015 样品的总离子色谱图

Fig.5 The total ion chromatographies of YA1985 and YA2015

贮藏期 6 年样品中酚类数量和相对含量均增加, 对甲基苯酚和 4-乙基愈创木酚是特征挥发性成分, 2,4-二叔丁基苯酚含量则增加 10 倍。愈创木酚、2,4-二叔丁基苯酚、对甲基苯酚和 4-乙基愈创木酚是木质素降解产物^[31], 阿魏酸在霉菌 (黑曲霉和青霉菌) 分泌的胞外酶作用下脱羧产生愈创木酚和 4-乙基愈创木酚^[32]。微生物分析进一步证实黑曲霉是普洱茶^[33,34]和康砖茶贮藏过程中的优势种群之一^[22]。黑曲霉是贮藏期 6 年样品中优势种群之一 (未发表数据), 4-乙基愈创木酚的产生可能是木质素在黑曲霉的作用下分解产生。贮藏期 10 年样品中 2,3-二甲基吡嗪和 2-乙基-1-己醇是特征挥发性成分, 5-甲基- γ 己内酯含量是贮藏期 1 年样品的 26 倍。香气阈值和香味分析表明, 2,3-二甲基吡嗪 (阈值 $800 \mu\text{g/L}$) 有烘烤香、坚果香^[28], 2-乙基-1-己醇有果甜香^[29], 5-甲基- γ 己内酯是微花香、甜香^[29]。坚果香 2,3-二甲基吡嗪、甜香 5-甲基- γ 己内酯和 2-乙基-1-己醇是贮藏期 10 年样品中重要的赋香成分。当贮藏期为 30 年时, 对甲基苯酚含量是贮藏期 6 年样品的 2.5 倍 (阈值 $55 \mu\text{g/L}$, 有药香)^[29]; 吡啶含量为贮藏期 6 年样品的 5 倍 (阈值 $140 \mu\text{g/L}$, 花香)^[29], 此时反-4-庚烯醛和顺-2-庚烯醛转化为其他成分, 愈创木酚含量是贮藏期 1~6 年样品的 1/6 到 1/10。低阈值的 4-甲基苯酚是贮藏期 30 年康砖茶的重要赋香成分, 此时青粗气挥发性成分减弱或消失, 药香明显, 与贮藏期 30 年以上茯砖茶的香型相似, 陈香中略带干药香^[4]。

表3 不同贮藏年份康砖茶差异挥发性成分分析

Table 3 The compositions and contents of differential volatiles of different aged Kang brick teas

保留时间/min	化合物	线性保留指数	基峰面积 ($\times 10^5$)						
			30年	25年	22年	15年	10年	6年	1年
8.94	顺-2-己烯醛	1220	92.25	-	-	4.39	-	255.44	434.06
9.59	反-4-庚烯醛	1244	-	-	-	-	-	105.81	50.51
9.96	1-戊醇	1257	-	-	-	-	-	183.97	-
9.96	2,6-二甲基吡啶	1258	59.42	37.29	4.64	-	47.49	-	-
10.84	辛醛	1290	379.09	152.37	33.97	45.26	204.03	85.65	232.97
11.78	顺-2-庚烯醛	1326	-	30.86	-	-	-	141.48	282.73
12.26	苯甲醚	1344	-	-	-	20.92	-	-	-
12.35	2,3-二甲基吡嗪	1347	-	-	-	-	20.32	-	-
12.80	正己醇	1364	7.61	50.30	-	-	152.86	477.26	706.85
13.28	6-甲基-2-庚醇	1382	16.87	11.81	-	-	26.69	21.84	33.84
13.46	2-壬酮	1389	224.94	-	24.56	15.50	209.37	70.24	70.48
13.63	壬醛	1395	327.45	159.52	-	-	14.04	127.15	143.81
14.09	反-2-己烯醇	1413	-	-	-	-	-	36.04	26.44
15.22	1-辛烯-3-醇	1457	106.25	52.69	-	-	153.06	144.63	233.83
15.40	糠醛	1464	143.61	73.76	-	-	-	-	608.90
15.56	6-甲基-5-庚烯-2-醇	1470	-	-	-	-	-	143.91	425.02
16.23	2-乙基-己醇	1497	-	-	-	-	131.30	-	-
16.33	癸醛	1500	-	-	-	-	-	61.97	21.33
16.67	3-壬烯-2-酮	1514	-	-	-	-	-	111.19	285.85
18.45	顺,反,2,6-壬二烯醛	1588	-	35.61	-	-	142.57	58.91	116.72
19.67	5-乙基-2-糠醛	1640	-	-	-	-	-	232.11	237.92
20.37	5-甲基- γ -己内酯	1670	-	-	-	-	115.58	-	4.50
21.14	α -萜品醇	1703	422.10	191.71	77.34	-	347.04	217.79	430.78
21.92	茶	1738	187.23	62.91	90.72	35.26	122.49	61.30	57.36
22.26	2-十一烯醛	1754	-	12.27	-	-	-	-	-
22.74	水杨酸甲酯	1775	309.95	86.37	61.74	55.34	150.14	49.38	119.71
23.46	3,4-二甲氧基甲苯	1808	260.72	81.08	60.02	67.36	167.94	196.13	119.49
23.87	茴香烯	1828	-	-	62.71	-	-	-	-
24.42	α -紫罗酮	1854	1015.95	276.13	-	-	1770.38	563.89	1113.34
24.51	香叶基丙酮	1858	1110.24	433.93	-	-	2887.40	1269.74	1763.13
24.59	愈创木酚	1862	4.17	13.85	-	-	30.12	42.99	23.36
25.00	1,2-二甲氧基-4-乙基苯	1882	116.87	95.43	116.93	152.38	229.87	149.78	126.26
26.03	β -紫罗酮	1932	1161.06	-	828.03	318.13	1137.52	484.27	1060.52
27.94	2-甲醛吡咯	2027	7.73	24.34	-	-	74.94	-	-
28.13	4-乙基愈创木酚	2038	-	-	-	-	-	99.44	-
29.07	对甲基苯酚	2086	72.46	-	-	-	-	34.71	-
29.23	3-甲基联苯	2094	63.42	7.88	28.50	24.04	-	-	-
29.88	植酮	2129	1661.10	755.15	254.17	341.51	1373.21	454.21	478.00
31.57	棕榈酸甲酯	2221	-	-	-	16.23	93.07	-	-
31.60	卡达茶	2223	-	7.31	17.11	18.86	66.33	5.94	19.65
33.26	2,4-二叔丁基苯酚	2317	-	-	-	8.63	30.64	12.93	1.19
35.43	吡啶	2445	6.78	-	-	-	3.62	1.29	-

2.7 基于滋味成分和香气成分不同贮藏年份

康砖茶 PLS-DA 分析

2.7.1 基于滋味成分不同贮藏年份康砖茶 PLS-DA 分析

对 41 个参试样品的糖组分、咖啡碱、茶多酚、儿茶素组分、茶色素、GA 和游离氨基酸等 17 个组分为变量进行 PLS-DA 分析。由图 6 可知，主成分 PC1 和 PC2 分别为 22.6%和 44.6%，累计贡献率为 67.2%。YA2001、YA2006、YA2010 和 YA2015 在 PLS-DA 平面上可明确区分，YA1993-YA1985 则在 PLS-DA 平面重叠。根据不同贮藏年份康砖茶所在象限的不同，滋味特征可以划分为 3 个变化阶段：即贮藏期 1~6 年（YA2015-YA2010）、10~15 年（YA2006-YA2001）和 22~30 年（YA1993-YA1985）。贮藏期 10 年是康砖茶滋味特征从新茶开始向陈年老茶转变的转折点。Xie 等^[35]对贮藏期 1~10 年普洱茶滋味成分 PLS-DA 分析结果与本研究结果基本一致，贮藏期 1~3 年与贮藏期 5~10 年普洱茶滋味特征不同，且贮藏期 5 年和贮藏期 10 年滋味特征有差异。

PLS-DA 变量重要性因子 (VIP) 可以衡量变量的重要性。VIP 值越大，对应变量对康砖茶滋味特征的贡献率越大，没食子酸、麦芽糖、茶褐素、EGCG 和 GCG 等 5 个生化成分在 PC1 和 PC2 的 VIP 值>1。因此，没食子酸、麦芽糖、茶褐素、EGCG 和 GCG 对康砖茶的滋味特征的变化有最显著的作用。贮藏期 10 年康砖茶中没食子酸、麦芽糖、茶褐素、EGCG 和 GCG 含量均处于整个贮藏期的最低水平；贮藏期 15 年康砖茶中没食子酸、麦芽糖、茶褐素和 EGCG 含量均有所增加，其中茶褐素增加显著。

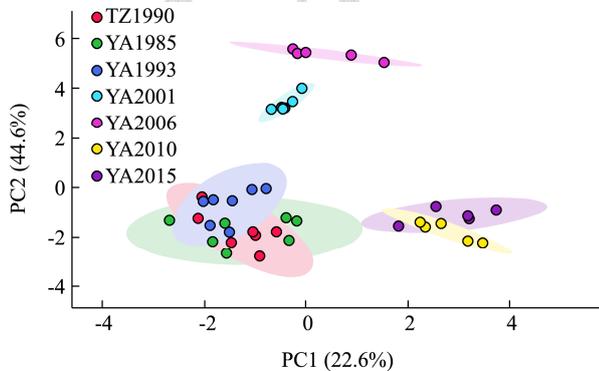


图 6 不同贮藏年份康砖茶主要滋味成分 PLS-DA 分析

Fig.6 Partial least squares discrimination analysis based on chemical components of different aged Kang brick teas

2.7.2 基于香气成分不同贮藏年份康砖茶 PLS-DA 分析

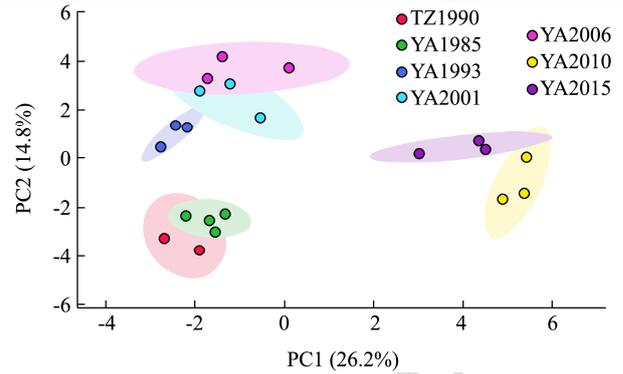


图 7 不同贮藏年份康砖茶挥发性成分 PLS-DA 分析

Fig.7 Partial least squares discrimination analysis based on differential volatiles of different aged Kang brick teas

以 42 个差异挥发性成分为变量进行 PLS-DA 分析。由图 7 可知，主成分 PC1 和 PC2 分别为 26.2%和 14.8%，累计贡献率为 41.0%。YA1985、TZ1990、YA1993、YA2001、YA2006、YA2010 和 YA2015 清晰地分布于 PLS-DA 平面上。根据不同贮藏年份康砖茶所在象限的不同，将香气轮廓分为 3 个阶段：贮藏期 1~6 年（YA2015~YA2010）、贮藏期 10~22 年（YA2006~YA1993）和贮藏期 25~30 年（TZ1990-YA1985）。贮藏期 10 年是康砖茶香气轮廓从新茶开始向陈年老茶转变的转折点。与高林等^[36]对 4 个不同贮藏期（1 年、5 年、10 年和 15 年）普洱熟茶的挥发性成分分析结果一致，贮藏期 1 年和 5 年的香气轮廓接近，贮藏期 10~15 年的香气轮廓接近，不同贮藏期香气轮廓有差异。

由 PLS-DA 计算挥发性成分的 VIP 值， α -萜品醇、正己醇、1-戊醇、顺,反,2,6-壬二烯醛、顺-2-庚烯醛、反-2-己烯醇、顺-2-己烯醛、植酮、2-十一烯醛、3,4-二甲氧基甲苯、5-乙基-2-糠醛、6-甲基-5-庚烯基-2-醇、癸醛、反-4-庚烯醛、3-壬烯-2-酮等 15 个挥发性成分在 PC1 和 PC2 上 VIP 值>1，2,4-二叔丁基苯酚、2-壬酮和糠醛在 PC2 上 VIP 值>1。2,4-二叔丁基苯酚、2-壬酮和糠醛对贮藏期 10~22 年（YA2006-YA1993）和 25~30 年（TZ1990-YA1985）的香气轮廓差异有最显著作用。贮藏期 10 年康砖茶以醇类、醛类和酮类为主的 18 个对香气轮廓有显著作用的挥发性成分含量处于低水平。

3 结论

3.1 康砖茶在 30 年的贮藏过程中，滋味成分含量发生阶段性变化。贮藏期 1~10 年康砖茶中茶多酚、儿茶素组分、没食子酸、咖啡碱、可溶性总糖和葡萄糖含量降低，而茶褐素、游离氨基酸总量、果糖和麦芽糖差异不显著。贮藏期 10~30 年，茶多酚、儿茶素组

分、没食子酸、茶褐素、咖啡碱、可溶性总糖、葡萄糖、果糖和麦芽糖含量增加,游离氨基酸总量显著降低。蔗糖在贮藏期为 1~10 年间有显著变化,贮藏期 10~30 年间,蔗糖差异不显著。

3.2 康砖茶在 30 年的贮藏过程中,构成香气轮廓的挥发性成分数量先减少后增加,特征挥发性成分逐渐改变,不同贮藏期康砖茶香型逐渐凸显。贮藏期 1~6 年中反-4-庚烯醛、顺-2-庚烯醛、愈创木酚和 4-乙基愈创木酚等逐渐转化或减少。当贮藏期 10 年时,酯类和杂环类构成独特的木(坚果)甜香。对甲基苯酚是贮藏期 30 年康砖茶药香的重要赋香成分。

3.3 感官审评结果表明,康砖茶香气和滋味对贮藏时间的响应最为明显,且有规律可循。基于不同贮藏期康砖茶滋味特征和香气轮廓的变化规律,滋味特征可分为 1~6 年、10~15 年和 22~30 年;香气轮廓分为 1~6 年、10~22 年和 25~30 年。贮藏期 10 年是康砖茶滋味特征和香气轮廓从新茶向陈年老茶转变的重要转折点。贮藏期 10~22 年是形成陈年康砖茶滋味特征和香气轮廓的关键期。当贮藏期 25~30 年时,康砖茶香气和滋味的干果香或中药材香已经形成。

参考文献

- [1] Kuo Kuanli, Weng Mengshih, Chiang Chunte, et al. Comparative studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of oolong, black, pu-erh, and green tea leaves in rats [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(2): 480-489
- [2] Liu D M, Huang J A, Luo Y, et al. Fuzhuan brick tea attenuates high-fat diet-induced obesity and associated metabolic disorders by shaping gut microbiota [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(49): 13589-13604
- [3] 周黎,赵振军,刘勤晋,等.不同贮藏年份普洱茶非挥发物质的 GC-MS 分析[J].西南大学学报(自然科学版),2009,31(11): 140-144
ZHOU Li, ZHAO Zhen-jun, LIU Qin-jin, et al. GC-MS analysis of non-volatile components of Pu-erh tea stored for different years [J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2009, 31(11): 140-144
- [4] 李适,湛滢,傅冬和,等.不同年份茯砖茶感官品质研究[J].茶叶科学,2016,36(5):500-504
LI Shi, SHEN Yin, FU Dong-he, et al. Organoleptic quality analysis of Fuzhuan brick teas in different storage years [J]. *Journal of Tea Science*, 2016, 36(5): 500-504
- [5] 湛滢,欧行畅,张杨波,等.不同储藏年份普洱生茶感官品质的分析[J].食品科技,2018,43(4):48-52
SHEN Yin, OU Xing-chang, ZHANG Yang-bo, et al. Organoleptic quality analysis of Pu-er teas in different storage years [J]. *Food Science and Technology*, 2018, 43(4): 48-52
- [6] 薛晨,华再欣,梅玉,等.原料级别和储藏时间对普洱茶品质影响的比较[J].安徽农业大学学报,2013,40(6):917-920
XUE Chen, HUA Zhai-xin, MEI Yu, et al. Effects of grades and storage durations on the quality of Pu-erh tea [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2013, 40(6): 917-920
- [7] 唐飞,艾于杰,张善明,等.不同年份青砖茶改善小鼠胃肠道功能的研究[J].华中农业大学学报,2018,37(1):82-88
TANG Fei, AI Yu-jie, ZHANG Shan-ming, et al. Effect of storage time of dark brick tea on improving gastrointestinal function in mice [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2018, 37(1): 82-88
- [8] Zheng W J, Wan X C, Bao G H. Brick dark tea: a review of the manufacture, chemical constituents and bioconversion of the major chemical components during fermentation [J]. *Phytochemistry Reviews*, 2015, 14(3): 499-523
- [9] 陈梅春,刘晓港,朱育菁,等.顶空固相微萃取-气质联用法测定不同陈化时间普洱茶香气成分[J].食品安全质量检测学报,2016,7(6):2396-2414
CHEN Mei-chun, LIU Xiao-gang, ZHU Yu-jing, et al. Determination of aroma components of aged Pu-erh tea with different storage years based on solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2016, 7(6): 2396-2414
- [10] 洪涛,黄遵锡,李俊俊,等.普洱熟茶和生茶香气成分的提取和测定分析[J].茶叶科学,2010,30(5):336-342
HONG Tao, HUANG Zun-xi, LI Jun-jun, et al. Extraction and analysis on the aromatic components of Pu-erh ripe tea and raw tea [J]. *Tea Science*, 2010, 30(5): 336-342
- [11] 张灵枝,王登良,陈维信,等.不同贮藏时间的普洱茶香气成分分析[J].园艺学报,2007,34(2):242-244
ZHANG Ling-zhi, WANG Deng-liang, CHEN Wei-xin, et al. Determination of volatiles of Puer tea stored for different lengths of time [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2007, 34(2): 242-244
- [12] Booth D E. Chemometrics: data analysis for the laboratory and chemical plant [J]. *Technometrics*, 2004, 46(1): 110
- [13] Deconinck E, Sokeng Djiogo C A, Courselle P. Chemometrics and chromatographic fingerprints to classify plant food supplements according to the content of regulated plants [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2017, 143: 48-55

- [14] Qi D D, Miao A Q, Cao J X, 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
- [15] 周卫龙,孙安华,钟萝.GB-T 8314-2013 茶游离氨基酸总量测定[S].北京:中国标准出版社,2013
ZHOU Wei-long, SUN An-hua, ZHONG Luo. GB-T 8313-2013 Determination of Amino acid in Tea [S]. Beijing: China Standard Press, 2013
- [16] 黄意欢.茶学实验技术[M].北京:中国农业出版社,1995
HUANG Yi-huan. Tea Experimental Technology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995
- [17] 周卫龙,徐建峰,许凌.GB-T 8313-2008 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法[S].北京:中国标准出版社,2008
ZHOU Wei-long, XU Jian-feng, XU Ling. GB-T 8313-2008 Determination of Tea Polyphenols and Catechins in Tea [S]. Beijing: China Standard Press, 2008
- [18] 乔小燕,吴华玲,韩雪文,等.仁化白毛茶生化成分与成品白茶品质的相关性研究[J].核农学报,2015,29(12):2327-2333
QIAO Xiao-yan, WU Hua-ling, HAN Xue-wen, et al. Correlation on biochemical components and made-tea quality of Renhua baimao cha [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2015, 29(12): 2327-2333
- [19] 黄华林,乔小燕,李波,等.萎凋方式对黄化英红九号红茶品质的影响[J].食品与机械,2018,34(10):26-30,66
HUANG Hua-lin, QIAO Xiao-yan, LI Bo, et al. Effects of different withering methods on black tea quality of yellowish Yinghong No.9 [J]. Food & Machinery, 2018, 34(10):26-30, 66
- [20] 陈维,祁丹丹,王雯雯,等.黄化变异对英红九号红茶香气的影响[J].现代食品科技,2018,34(10):237-245
CHEN Wei, QI Dan-dan, WANG Wen-wen, et al. The effect of chlorina on the aroma of Yinghong 9 black tea [J]. Modern Food Science & Technology, 2018, 34(10): 237-245
- [21] 高力,刘通讯.不同年份普洱茶儿茶素等组成及含量变化研究[J].食品工业,2013,8:175-178
GAO Li, LIU Tong-xun. Catechins components analysis on different aged Pu-er tea [J]. The Food Industry, 2013, 8: 175-178
- [22] 钟涛,齐桂年,胥伟,等.藏茶贮存过程中真菌种群的鉴定[J].贵州农业科学, 2010, 38(10):101-103,106
ZHONG Tao, QI Gui-nian, XU Wei, et al. Identification of fungal populations during the storage period of Tibetan tea [J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2010, 38(10): 101-103, 106
- [23] Batra A, Saxena RK. Potential tannase producers from the genera *Aspergillus* and *Penicillium* [J]. Process Biochemistry, 2005, 40(5): 1553-1557
- [24] Aguilar C N, Rodríguez R, Gutiérrez-Sánchez G, et al. Microbial tannases: advances and perspectives [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 76: 47-59
- [25] 李栋玉,时有明,易时来.FT-IR 结合曲线拟合分析用于普洱熟茶陈化过程的研究[J].光谱学与光谱分析,2015,35(7): 100-103
LI Dong-yu, SHI You-ming, YI Shi-lai. Aging process of Pu-er black tea studied by FT-IR spectroscopy combined with curve-fitting analysis [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2015, 35(7): 100-103
- [26] 黄亚辉,陈建华,周筠,等.不同年代茯砖茶感官品质和化学成分的差异性[J].食品科学,2010,1:235-239
HUANG Ya-hui, CHEN Jian-hua, ZHOU Jun, et al. Differences in sensory quality and chemical composition of Fuzhuan tea of different storage ages [J]. Food Science, 2010, 1: 235-239
- [27] 甘甜,邓岳,聂远洋,等.雅安藏茶贮藏过程中滋味和风味成分的变化[J].中国测试,2017,43(1):50-53
GAN Tian, DENG Yue, NIE Yuan-yang, et al. Changes of taste and flavor compounds in Ya'an Tibetan tea during storage [J]. China Measurement & Test, 2017, 43(1): 50-53
- [28] 莫新良,徐岩,罗涛,等.优势传统黄酒类制造业关键技术与应用系列-2 黄酒麦曲中挥发性香气化合物的研究[J].中国酿造,2009,28(7):23-27
MO Xin-liang, XU Yan, LUO Tao, et al. Key technology and application in advantageous traditional Chinese rice wine industry (2): volatile aroma compounds in Chinese rice wine wheat qu [J]. China Brewin, 2009, 28(7): 23-27
- [29] Burdock GA. Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients, Fifth Edition [M]. London: CRC Press, 2010
- [30] 王瑞花,陈健初,叶兴乾,等.黄酒对猪肉炖煮过程挥发性风味物质变化的影响[J].现代食品科技,2015,31(12):406-415
WANG Rui-hua, CHEN Jian-chun, YE Xing-qian, et al. Effects of chinese rice wine on changes in volatile flavor compounds during stewing pork [J]. Modern Food Science & Technology, 2015, 31(12): 406-415
- [31] Martínez, Ángel T, Speranza M, Ruiz-Dueñas, Francisco J, et al. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin [J]. International Microbiology, 2005, 8(3): 195-204