

青砖茶初制、渥堆过程中挥发性风味成分分析

刘盼盼^{1,2}, 郑鹏程¹, 王胜鹏¹, 龚自明^{1*}, 滕靖¹, 高士伟¹, 王雪萍¹, 叶飞¹, 郑琳¹

1(湖北省农业科学院果树茶叶研究所/湖北省茶叶工程技术研究中心, 湖北 武汉, 430064)

2(信阳农林学院 河南省豫南茶树资源综合开发重点实验室, 河南 信阳, 464000)

摘要 以赤壁群体种茶叶为原料加工青砖茶, 采用顶空固相微萃取法结合气相色谱-质谱仪联用技术, 对青砖茶初制、渥堆过程中样品的挥发性成分进行了分析鉴定。结果表明, 青砖茶初制、渥堆加工过程中共鉴定出 62 种挥发性风味物质, 在鲜叶至渥堆结束后的 7 个样品中分别鉴定出 45、41、41、40、43、42 和 48 种挥发性风味物质。在鲜叶至晒干阶段, 青砖茶香气含量较高的依次为醛类、醇类、酯类和酮类等化合物, 而在渥堆期间受到微生物的作用, 烯醛、酮类、甲氧基苯类和呋喃类风味物质明显增加, 醇类和酯类风味物质明显减少。 β -紫罗酮、芳樟醇、顺-4-庚烯醛、反-顺-2,6-壬二烯醛、癸醛、反-2-壬烯醛、反-反-2,4-庚二烯醛、1-辛烯-3-醇、壬醛、 α -紫罗酮、1-戊烯-3-酮、2-辛烯-1-醛等 12 个气味活度值(odor active value, OAV)均值大于 1 的香气化合物对青砖茶不同加工阶段的风味变化有着重大贡献。渥堆是青砖茶挥发性风味成分形成的关键步骤, 青砖茶毛茶的香气特征性成分有: 反-反-2,4-庚二烯醛、2-辛烯-1-醛、反-顺-2,6-壬二烯醛、壬醛、苯乙醛、 β -环柠檬醛、 β -紫罗酮、 α -紫罗酮、1,2,3-三甲氧基苯和 α -萜品醇等。

关键词 青砖茶; 渥堆; 挥发性成分; 顶空固相微萃取; 气味活度值

青砖茶, 属黑茶类, 我国特有, 湖北特产, 因具有分解脂肪、舒畅肠胃、抗氧化、降血糖等功能^[1-5], 长期以来, 是边疆少数民族生活中不可或缺的必需品。青砖茶加工分为初制、渥堆、复制、压制和干燥等 5 个工艺部分^[6], 初制工艺包括杀青、揉捻、晒干工序, 青砖茶渥堆工艺耗时较长, 一般需要 30~50 d, 其中翻堆 2~3 次, 渥堆后茶坯自然陈化 120 d 以上, 经复制、压制、干燥工艺制得成品茶。

渥堆工艺是黑茶品质形成关键, 其实质是茶坯在湿热和微生物共同作用下发生以多酚类为主化学成分发生一系列的生化反应, 从而形成了黑茶特有的风味品质。目前国内外对黑茶品质的研究多集中于茯砖茶和普洱茶等^[7-8], 普洱茶香气成分的特征在于渥堆过程中形成了大量芳香族化合物, 如 1,2,3-三甲氧基苯、1,2-二甲氧基苯等^[7]。而茯砖茶的“菌花香”也主要在“发花”期间通过冠突散囊菌等微生物作用

下形成, 其中芳樟醇及其氧化物是对香气贡献较大的一类成分^[8]。此外, 渥堆后的风干陈化也对黑茶的香气有显著影响^[9]。以上加工化学研究为探明黑茶风味品质形成机理奠定了基础, 对黑茶加工工艺优化和产品品质的提升具有积极意义。

与茯砖茶、普洱茶等其他黑茶相比, 青砖茶加工品质化学研究较少, 关于青砖茶香气成分在初制、渥堆过程中变化更是尚未见报道, 从毛茶初制到渥堆结束的整个动态加工过程中青砖茶挥发性成分的变化规律及形成原因尚不明确。基于此, 本研究采用赤壁群体种的鲜叶为原料, 以青砖茶初制、渥堆加工过程中的样品作为研究对象, 利用顶空-固相微萃取法(head space-solid phase microextraction, HS-SPME)富集其香气物质, 结合气相色谱-质谱(gas chromatograph-mass spectrometry, GC-MS)联用技术进行香气成分的检测分析, 研究青砖茶的香气成分组成在初制过程中的变化规律, 有助于揭示青砖茶香气的形成机制, 以提高青砖茶品质。

1 材料与方法

1.1 实验材料

青砖茶所采鲜叶为赤壁市群体种, 来自赤壁赵李桥茶厂基地, 采摘标准为 1 芽 5 叶, 在初制与渥堆(毛茶加工)过程中依次取样, 为了保证取样的相对一致性、代表性和实验的准确性, 实验样品均在同一批青

第一作者: 硕士, 研究实习员(龚自明研究员为通讯作者, E-mail: zimingong@163.com)。

基金项目: 湖北省农业科学院青年科学基金项目(2017NKYJ113); 信阳农林学院河南省豫南茶树资源综合开发重点实验室开放基金资助项目(HNKLTOF2017004); 国家现代农业(茶叶)产业技术体系专项(CARS-23); 湖北省重大科技创新计划项目(2014ABA023); 湖北省农业科技创新中心资助项目(2016-620-000-001-032)

收稿日期: 2017-02-24, 改回日期: 2017-05-10

砖茶加工工序中随机取样,取样量 5 kg,重复 3 次。具体取样步骤如下:

鲜叶(A)、杀青(B)、揉捻(C)、晒干(D)、第 1 次翻堆 8 d(E)、第 2 次翻堆 20 d(F)、自然陈化 120 d(G)等,所取样品先于 100 ℃下烘 10 min,然后 60 ℃烘至足干,低温保存。

1.2 仪器设备

手动 SPME 进样器和 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 固相微萃取头,美国 Supelco 公司;7890A 气相色谱仪,5975C 质谱仪,美国 Agilent 公司;HHS 型恒温水浴锅,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;Milli-RO PLUS 30 纯水机,法国 Millipore 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 顶空固相微萃取法

将茶样粉碎均匀,准确称取 5g 茶样放入萃取瓶中,加入沸纯净水 100 mL,加入一定量的内标癸酸乙酯,密闭瓶口,然后将装有 50/30 μm DVB/CAR/PDM 萃取头(实验前须在 250 ℃老化 15 min)的 SPME 手持器通过瓶盖的橡皮垫插入到萃取瓶中,在 50 ℃水浴中平衡 10 min,推出纤维头,吸附 50 min 后,取出并立即插入气相色谱仪的进样口中,解吸附 3 min,同时启动仪器收集数据。

1.3.2 气相色谱-质谱联用分析

GC 条件:安捷伦 HB-5MS(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm)弹性石英毛细管柱。进样口温度为 240 ℃、ECD 检测器温度为 250 ℃;载气为高纯氦气;流速 1.0 mL/min。

柱温程序:50 ℃保持 5 min,以 3 ℃/min 升至 180 ℃保持 2 min,然后以 10 ℃/min 升至 250 ℃保持 3 min;实验中尽量将峰分开,保证峰形的对称完整,然后通过质谱进行定性分析。

MS 条件:EI 电离能量为 70 eV;质量扫描范围为 50-600 amu;离子源温度为 230 ℃;四极杆温度为 150 ℃;质谱传输线温度为 280 ℃。

1.4 物质鉴定

利用 NIST11. L 谱库对得到的质谱图进行串连检索和人工解析。查对有关质谱资料,对基峰、质核比和相对峰度等方面进行分析,结合保留时间和质谱分别对各峰加以确认。MS 峰鉴定:利用 NIST11. L 谱库对得到的质谱图进行串连检索和人工解析,质谱匹配度 >90% 作为物质鉴定标准。采用内标法定量,得到各组分的含量。

1.5 挥发性成分的定量和 OAV 计算

以癸酸乙酯作为内标物,每个香气组分的质量浓度按公式(1)计算:

$$C_i = C_{is} \times A_i/A_{is} \quad (1)$$

式中: C_i 为某个组分的质量浓度,μg/L; C_{is} 为内标的质量浓度,μg/L; A_i 为某个组分的色谱峰面积; A_{is} 为内标的色谱峰面积。

OAV 为某化合物质量浓度与该物质嗅觉阈值的比值,按公式(2)计算:

$$OAV_i = C_i/T_i \quad (2)$$

式中: C_i 为某个组分的质量浓度,μg/L; T_i 为该组分的气味阈值,μg/L。

2 结果与分析

2.1 不同加工阶段青砖茶香气化合物的鉴定与分析

对青砖茶初制、渥堆过程中的茶样进行 HS-SPME/GC-MS 分析,所检测到的香气成分及含量见表 1。图 1、图 2 分别为鲜叶(A)和自然陈化(G)样品的挥发物成分的 GC-MS 分析总离子流图。在青砖茶不同的加工阶段,风味物质的种类和含量均有不同

表 1 青砖茶加工过程中香气成分及相对含量

单位:μg/L

Table 1 Aromatic components and relative contents of Qingzhuan tea during processing

编号	化合物	保留时间/min	A	B	C	D	E	F	G
1	1-戊烯-3-酮 1-penten-3-one	2.59	0.87	2.02	4.08	0.96	2.21	2.94	1.19
2	反-2-戊烯醛(E)-2-pentenal	3.54	2.23	2.19	0.78	1.13	1.96	2.32	1.75
3	己醛 hexanal	4.49	3.44	3.51	5.81	2.68	2.28	4.58	4.13
4	2-己烯醛 2-hexenal	6.21	2.91	1.61	2.49	2.32	1.22	4.42	2.90
5	3-己烯-1-醇 3-hexen-1-ol	6.37	0.80	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	邻二甲苯 o-xylene	6.78	0.55	0.84	1.55	0.45	0.46	1.03	0.43
7	乙酸异戊酯 isoamyl acetate	7.16	ND	0.38	0.47	5.35	1.03	0.48	ND
8	顺-4-庚烯醛(Z)-4-heptenal	8.04	1.30	2.07	2.95	0.89	1.23	4.75	1.40
9	庚醛 heptanal	8.12	1.73	2.32	4.70	1.52	1.89	4.12	2.39
10	反,反-2,4-己二烯醛(E,E)-2,4-hexadienal	8.57	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.42
11	3,5-二甲基苯酚 3,5-dimethylphenol	9.61	0.28	0.32	0.76	0.26	0.72	0.24	0.10
12	顺-2-庚烯醛(Z)-2-heptenal	10.62	2.30	2.12	3.80	2.51	6.93	5.25	2.57

续表 1

编号	化合物	保留时间/min	A	B	C	D	E	F	G
13	苯甲醛 benzaldehyde	10.74	5.55	6.52	7.27	5.73	4.78	4.25	4.97
14	1-辛烯-3-醇 1-octen-3-ol	11.78	1.76	2.75	3.11	1.84	7.81	5.38	1.65
15	己酸乙烯基酯 vinyl hexanoate	12.04	0.84	1.58	2.34	ND	ND	ND	ND
16	6-甲基-5-庚烯-2-酮 6-methyl-5-heptene-2-one	12.15	4.21	5.16	9.29	4.61	10.42	13.91	4.78
17	2-正戊基呋喃 2-pentylfuran	12.34	ND	ND	ND	ND	1.91	2.79	2.18
18	反-2-(2-戊烯基)呋喃 (<i>E</i>)-2-(2-pentenyl) furan	12.83	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.26
19	辛醛 octanal	12.91	0.90	1.19	2.09	0.38	2.50	1.78	0.67
20	反,反-2,4-庚二烯醛 (<i>E,E</i>)-2,4-heptadienal	13.27	14.56	16.29	17.63	19.88	22.86	31.31	30.60
21	2-烯丙基呋喃 2-(prop-2-en-1-yl) furan	13.95	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.13
22	柠檬烯 limonene	14.07	1.65	1.47	1.71	0.78	0.86	1.43	0.70
23	2,6,6-三甲基环己烷酮 2,2,6-trimethylcyclohexanone	14.38	0.83	0.86	1.36	0.64	1.47	2.01	0.72
24	苯甲醇 benzyl alcohol	14.74	1.73	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	苯乙醛 benzeneacetaldehyde	14.85	3.22	1.43	1.34	3.02	0.96	ND	0.41
26	2-辛烯-1-醛 2-octen-1-al	15.63	5.70	5.36	8.68	4.48	9.64	12.33	11.38
27	顺-氧化芳樟醇 (<i>Z</i>)-linalool oxide	16.34	3.90	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28	反-氧化芳樟醇 (<i>E</i>)-linalool oxide	17.14	3.51	ND	ND	ND	ND	ND	ND
29	3,5-辛二烯-2-酮 3,5-octadien-2-one	17.43	0.83	ND	ND	ND	ND	ND	ND
30	芳樟醇 linalool	17.79	45.65	40.20	27.07	15.18	16.95	13.97	7.43
31	壬醛 nonanal	17.97	7.67	10.12	14.56	7.34	9.82	7.86	7.48
32	反,反-2,4-辛二烯醛 (<i>E,E</i>)-2,4-octadienal	18.15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.82
33	苯乙醇 phenylethyl alcohol	18.46	2.40	2.36	1.71	4.56	2.83	ND	1.38
34	1,2-二甲氧基苯 1,2-dimethoxybenzene	20.05	ND	ND	ND	ND	1.71	1.50	2.79
35	反,顺-2,6-壬二烯醛 (<i>E,Z</i>)-2,6-nonadienal	20.32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.64
36	反-2-壬烯醛 (<i>E</i>)-2-nonenal	20.63	1.04	1.38	2.04	1.04	1.48	1.42	4.63
37	乙酸苯甲酯 phenylmethyl acetate	20.87	ND	4.03	ND	9.39	2.46	ND	ND
38	萘 naphthalene	21.52	1.41	2.31	3.06	1.67	1.68	1.71	2.00
39	反-丁酸-3-己烯酯 (<i>E</i>)-3-hexenyl butyrate	22.01	0.38	ND	ND	ND	ND	ND	ND
40	α -蒎品醇 α -terpineol	22.08	0.84	1.05	1.25	0.68	0.39	0.52	2.47
41	水杨酸甲酯 methyl salicylate	22.26	47.07	43.37	20.69	26.23	15.22	3.93	1.63
42	藏红花醛 safranal	22.48	0.87	1.42	1.40	0.93	0.87	3.57	2.24
43	癸醛 decanal	22.86	1.40	1.77	1.34	0.88	1.49	1.47	1.57
44	β -环柠檬醛 β -cyclocitral	23.46	5.89	6.40	9.36	7.39	12.33	14.89	8.55
45	香叶醇 geraniol	25.14	3.35	ND	ND	ND	ND	ND	ND
46	己酸-2-苯乙酯 2-phenylethyl caproate	25.21	1.93	ND	ND	ND	ND	ND	ND
47	乙酸苯乙酯 phenethyl acetate	25.25	ND	6.12	2.68	15.40	5.83	3.00	ND
48	反-2-癸烯醛 (<i>E</i>)-2-decenal	25.43	1.49	1.07	1.34	1.75	3.47	ND	1.78
49	3,7-二甲基-2,6-二辛烯醛 3,7-dimethyl-2,6-octadienal	25.86	1.66	ND	ND	ND	1.96	ND	2.82
50	1,2,3-三甲氧基苯 1,2,3-trimethoxybenzene	27.83	ND	ND	ND	ND	3.73	0.56	13.15
51	香叶酸甲酯 methyl geranate	28.26	ND	ND	ND	ND	ND	1.97	3.45
52	1,1,6-三甲基-1,2-二氢萘 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene	29.41	ND	1.12	1.32	ND	ND	1.24	1.41
53	丙酸苯乙酯 phenylethyl propionate	29.45	ND	ND	ND	2.64	ND	ND	ND
54	1,2,3,4-四氢-1,6-三甲基萘 naphthalene,1,2,3,4-tetrahydro-1,1,6-trimethyl-	29.55	0.88	1.16	1.25	0.52	1.16	1.23	ND
55	1,2,4-三甲氧基苯 1,2,4-trimethoxybenzene	30.30	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.32
56	十四烷 tetradecane	31.55	2.86	2.79	3.87	2.47	2.79	3.19	3.19
57	3,4-二甲氧基-1-丙烯基苯 3,4-dimethoxy-1,1-propen-1-yl benzene	31.77	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.11
58	α -紫罗酮 α -ionone	32.67	3.04	3.78	4.41	6.09	7.85	10.07	15.13
59	反-香叶基丙酮 (<i>E</i>)-geranylacetone	33.74	3.75	5.30	6.19	10.85	13.58	9.71	11.14
60	β -紫罗酮 β -ionone	35.07	4.77	5.09	7.40	10.20	12.74	14.29	16.19
61	反-橙花叔醇 (<i>E</i>)-nerolidol	38.14	1.74	1.24	1.39	1.50	0.96	1.00	1.14
62	植酮 hexahydrofarnesyl acetone	48.26	ND	0.17	0.17	0.17	0.35	0.44	0.90

注:ND 表示香气化合物在相应样品中未被检出。

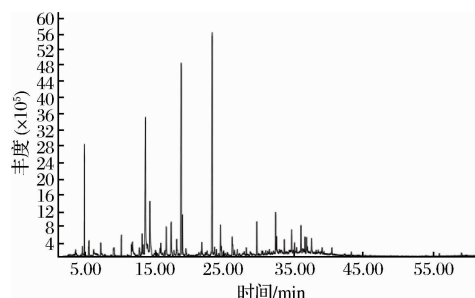


图1 鲜叶(A)样品的 GC-MS 总离子流图
Fig.1 The GC-MS total ion flow figure of fresh leaves sample

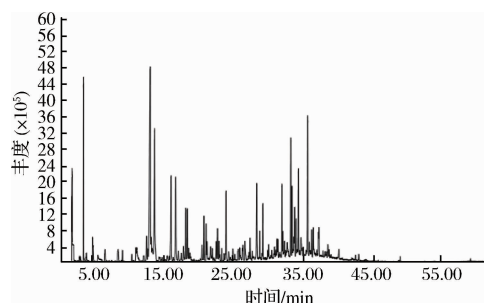


图2 自然陈化(G)样品的 GC-MS 总离子流图
Fig.2 The GC-MS total ion flow figure of natural aging sample

程度的变化,7个过程节点的样品中共鉴定出62种挥发性风味物质,主要为醛类、酮类、醇类、酯类、芳香烃、呋喃和杂氧化合物,还有少量的烯类化合物等。鲜叶(A)样品中,共检出45种香气化合物;杀青(B)后检出41种香气化合物;揉捻(C)后检出41种香气化合物;晒干(D)后检出40种香气化合物;第1次翻堆(E),第2次翻堆(F)和自然陈化(G)结束后分别检出43、42和48种香气化合物。

2.2 不同加工阶段青砖茶香气组成与比例的变化

青砖茶不同加工阶段的香气化合物组成与所占香气总量的比例分布如图3所示,青砖茶加工过程样品的香气均主要是由醛类、酮类、醇类、酯类、芳香烃、呋喃类和杂氧化合物等组成,其中含量较低的烯类、酚类和烷烃化合物等归在其他类中。

醛类化合物在青砖茶加工过程中所占比例最高,变化幅度较大,该类化合物的含量在揉捻后和渥堆期间都有明显的增加,渥堆结束后较鲜叶增加了58.3%;酮类化合物的含量在加工过程中呈现逐渐上升的趋势,在揉捻和第1次翻堆时变化显著,且在渥堆期间较为稳定,渥堆结束后较鲜叶增加了173.5%;醇类化合物的含量在加工过程中呈现逐渐降低的趋势,从杀青到晒干阶段含量都有较大的下降,在第1次翻堆时略有上升,到渥堆结束时又明显降低,较鲜叶减少了78.6%;酯类化合物的含量在揉

捻阶段显著降低,而在晒干阶段明显上升,然后在渥堆期间呈下降趋势,渥堆结束后较鲜叶减少了89.9%;呋喃类和杂氧化合物均在鲜叶至晒干阶段未检出,渥堆期间开始产生并呈增加趋势。

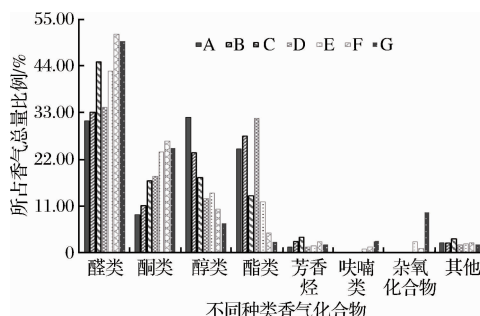


图3 不同加工阶段青砖茶样品中香气化合物的种类与比例

Fig.3 Aroma varieties and their proportion of Qingzhu tea during processing

2.2.1 醛类化合物的比较和分析

醛可分为脂肪醛、酯环醛、芳香醛和萜烯醛。青砖茶加工过程中产生的香气以脂肪醛为主,还有少量芳香醛和萜烯醛,其中脂肪醛中不饱和烯醛的含量明显高于饱和醛(图4)。脂肪醛中烯醛含量在鲜叶至晒干阶段变化不大,而在第1次翻堆时显著增加,渥堆期间不断上升,渥堆结束后含量达到68.72 $\mu\text{g/L}$,较鲜叶增加了107.0%。反,反-2,4-庚二烯醛(14.56 ~ 31.31 $\mu\text{g/L}$)、2-辛烯-1-醛(4.48 ~ 12.33 $\mu\text{g/L}$)、顺-2-庚烯醛(2.12 ~ 6.93 $\mu\text{g/L}$)和2-己烯醛(1.22 ~ 4.42 $\mu\text{g/L}$)等是含量较高的烯醛化合物。脂肪醛中的饱和醛主要有壬醛、己醛、辛醛等,含量仅在揉捻后有一定的增加,而在其他加工阶段均无明显变化。芳香醛包括苯甲醛和苯乙醛,在整个加工过程中都变化不大。萜烯醛仅包含 β -环柠檬醛,含量为5.89 ~ 14.89 $\mu\text{g/L}$,在渥堆期间呈先升后降趋势。

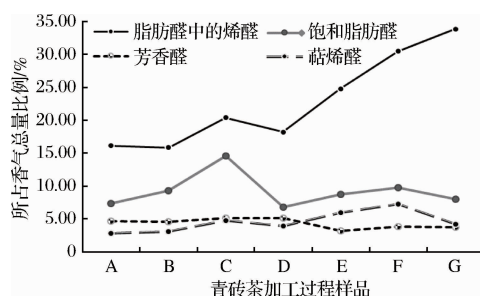


图4 不同加工阶段青砖茶样品中醛类化合物的种类与比例

Fig.4 Aroma varieties and their proportion of aldehydes in Qingzhu tea during processing

醛类化合物阈值一般较低,反,顺-2,6-壬二烯

醛、顺-4-庚烯醛和反-2-壬烯醛的阈值都非常低,分别为0.03、0.06和0.4 $\mu\text{g/L}$,且风味分别呈现出黄瓜、鱼腥味和脂肪味^[10]。己醛、壬醛和辛醛阈值相对较低,分别为2.4、2.8和3.4 $\mu\text{g/L}$,且风味分别呈现出青草气、皂味和柑橘香^[11]。芳香醛中苯乙醛的阈值(4 $\mu\text{g/L}$)要远远低于苯甲醛(100~4 600 $\mu\text{g/L}$),因此对甜香、花香风味贡献更大^[12]。DU等^[13]研究普洱茶的香气结果表明,顶空固相微萃取法中反,反-2,4-庚二烯醛和苯甲醛是醛类化合物中主要的成分,而同时蒸馏萃取法中苯乙醛是醛类化合物中主要的成分。 β -环柠檬醛的阈值为19 $\mu\text{g/L}$,从低浓度到高浓度依次可呈现出青草气、木香、烟叶味等^[14],对整体风味有一定影响。脂肪醛的产生很可能来源于脂肪酸的降解^[15],芳香醛则可能来源于氨基酸的氧化降解,如苯丙氨酸等, β -环柠檬醛可能来源于类胡萝卜素的氧化分解^[16]。XU等^[17]研究指出反-2-戊烯醛、反-2-己烯醛、反,反-2,4-庚二烯醛和反,顺-2,4-庚二烯醛等烯醛类化合物对茯砖茶的陈香贡献大。由此可见,醛类化合物的阈值较低,且在青砖茶香气组成中所占比例最高,尤其是脂肪醛中的烯醛,对青砖茶加工过程中香气的形成有重大贡献,成为构成青砖茶陈香风味的关键成分。

2.2.2 酮类化合物的比较和分析

酮类化合物中 β -紫罗酮、 α -紫罗酮、反-香叶基丙酮和6-甲基-5-庚烯-2-酮等是含量较高的几个组分。 β -紫罗酮和 α -紫罗酮的含量在整个加工阶段持续增加,反-香叶基丙酮的含量在鲜叶至第1次翻堆期间不断上升,然后在渥堆中后期(F~G)略有下降,而6-甲基-5-庚烯-2-酮在揉捻和2次翻堆后含量均很高,其他阶段含量较低,渥堆结束后降至与鲜叶相近水平。

酮类化合物阈值一般较低, β -紫罗酮和 α -紫罗酮的阈值分别为0.2 $\mu\text{g/L}$ ^[10]和2.6 $\mu\text{g/L}$ ^[18],具有花香、木香等风味^[19]。这些酮类化合物可能来源于类胡萝卜素的氧化和缩合反应及 β -胡萝卜素的氧化分解反应^[20],而该反应可能是在渥堆期间微生物的作用下引起的。对普洱和茯砖茶的研究表明,茯砖茶中的 β -紫罗酮、香叶基丙酮和6-甲基-5-庚烯-2-酮的含量要显著高于普洱^[21-23]。反-香叶基丙酮具有玉兰花香,6-甲基-5-庚烯-2-酮具有辣椒、蘑菇、橡胶、果香等风味^[13,24]。可见,这些酮类化合物对青砖茶的花香及木香风味有着直接的影响。

2.2.3 醇类化合物的比较和分析

醇类化合物主要包括脂肪醇、芳香醇和萜烯醇等。其中芳樟醇(7.43~45.65 $\mu\text{g/L}$)是含量最高,变化最显著的成分,渥堆结束后较鲜叶减少了

84.2%。芳樟醇的阈值为0.6 $\mu\text{g/L}$,具有花香^[10],是绿茶^[25]、乌龙茶^[26]和红茶^[27]香气中重要的成分,但是在普洱、茯砖等^[21]黑茶中含量都较低。3-己烯-1-醇、苯甲醇、氧化芳樟醇和香叶醇仅在鲜叶中检测到,杀青之后的加工阶段都未检出。1-辛烯-3-醇在渥堆初期显著增加,之后逐渐下降,接近鲜叶水平,该化合物具有蘑菇、药及泥土味,可能来源于脂肪酸的氧化降解^[28]。 α -萜品醇在渥堆结束时含量陡然上升,较鲜叶增加了195.7%,研究表明它具有花香、甜香,也是普洱茶醇系香气中重要的成分,其形成可能与发酵过程中微生物活性有关^[21]。可见,青砖茶加工过程中醇类化合物种类和含量都明显降低,与其风味变化有着直接的联系。

2.2.4 酯类化合物的比较和分析

本研究中共检出9种酯类风味物质,在杀青至晒干阶段种类最多,均有5种,而渥堆结束后仅存2种风味物质。水杨酸甲酯(1.63~47.07 $\mu\text{g/L}$)是含量最高,变化最显著的酯类成分,渥堆结束后较鲜叶减少了96.5%。反-丁酸-3-己烯酯和己酸-2-苯乙酯仅在鲜叶中检测到,杀青之后的加工过程都未检出。香叶酸甲酯在第2次翻堆后才产生,具有花香、果香风味。乙酸苯甲酯、乙酸苯乙酯和丙酸苯乙酯等在晒干阶段含量最高,在鲜叶和渥堆结束后均不存在,现有研究表明乙酸苯甲酯是茉莉花茶香气的重要成分^[29],乙酸苯乙酯是乌龙茶香气的重要成分^[30],可见日晒可能促进芳香酯类的产生。青砖茶加工过程中酯类化合物种类和含量都显著降低,对其风味影响不大。

2.2.5 其他化合物的比较和分析

在青砖茶加工过程中还检测到了芳香烃、呋喃类、杂氧化合物、烯类等。芳香烃在加工过程中无明显变化规律,具有特殊的香气,对整个风味贡献不大。呋喃类和杂氧化合物都是在渥堆期间产生,且杂氧化合物在渥堆结束时达到了较高的含量(19.37 $\mu\text{g/L}$),对最终风味的形成有一定程度影响。呋喃类化合物具有烧焦、甜的气味,它们的形成与美拉德反应、Strecker反应有关^[31],可能对青砖茶风味有特殊贡献。1,2,3-三甲氧基苯、1,2-二甲氧基苯等甲氧基苯类化合物是含量较高的杂氧化合物,已有研究表明该类物质是普洱香气的特征成分,对普洱的陈香有着直接的贡献,它们的形成与渥堆期间的微生物有着紧密的关系^[32-33]。

2.3 不同加工阶段青砖茶香气活性化合物分析

由表2可知, β -紫罗酮、芳樟醇、顺-4-庚烯醛等12个OAV均值大于1的香气化合物对青砖茶不同加工阶段的风味变化有着重大贡献。 β -紫罗酮、反-2-壬烯醛、反,反-2,4-庚二烯醛和 α -紫罗酮的OAV在加工阶段呈增加趋势,对青砖茶最终风味的形成至

关重要。而芳樟醇的 OAV 在加工阶段显著降低,在晒干阶段变化最大,可见它对晒干工艺之前的加工样品香气形成有直接贡献。反,顺-2,6-壬二烯醛仅存在于陈化阶段且 OAV 高达 221.50,是青砖茶特征香气形成不可缺少的成分。不同组分对各个工艺的风味形成起着不同作用,从整个加工阶段 OAV 变化规

律来看,芳樟醇、癸醛、壬醛和 1-戊烯-3-酮对鲜叶至揉捻阶段风味贡献较大, β -紫罗酮、顺-4-庚烯醛、反,反-2,4-庚二烯醛、1-辛烯-3-醇、2-辛烯-1-醛对翻堆阶段风味贡献较大, β -紫罗酮、反,顺-2,6-壬二烯醛、反-2-壬烯醛、反,反-2,4-庚二烯醛、和 α -紫罗酮对陈化阶段风味贡献较大。

表 2 青砖茶加工阶段主要香气化合物的阈值和 OAV 值分析
Table2 Odor thresholds and odor activity values (OAV) of important aroma compounds in the Qingzhuan tea during processing

化合物	风味描述	阈值/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	OAV 值						
			A	B	C	D	E	F	G
β -紫罗酮	花香、木香	0.20 ^[10]	23.86	25.46	37.00	51.02	63.71	71.44	80.97
芳樟醇	花香、柑橘	0.60 ^[10]	76.09	67.00	45.11	25.30	28.25	23.29	12.38
顺-4-庚烯醛	鱼腥、奶油甜	0.06 ^[10]	21.73	34.55	49.23	14.88	20.46	79.12	23.36
反,顺-2,6-壬二烯醛	黄瓜、紫罗兰	0.03 ^[10]	—	—	—	—	—	—	221.50
癸醛	肥皂、橙皮	0.10 ^[34]	14.01	17.70	13.42	8.79	14.92	14.69	15.66
反-2-壬烯醛	脂肪、青香	0.40 ^[10]	2.61	3.45	5.11	2.60	3.70	3.56	11.58
反,反-2,4-庚二烯醛	脂肪、蜡	5.00 ^[35]	2.91	3.26	3.53	3.98	4.57	6.26	6.12
1-辛烯-3-醇	蘑菇、肉	1.00 ^[18]	1.76	2.75	3.11	1.84	7.81	5.38	1.65
壬醛	脂肪、果香	2.80 ^[11,34]	2.74	3.62	5.20	2.62	3.51	2.81	2.67
α -紫罗酮	花香、木香	2.60 ^[18]	1.17	1.46	1.70	2.34	3.02	3.87	5.82
2-辛烯-1-醛	青味、坚果	3.00 ^[34]	1.90	1.79	2.89	1.49	3.21	4.11	3.79
1-戊烯-3-酮	香辣等刺激性气味	1.00 ^[34]	0.87	2.02	4.08	0.96	2.21	2.94	1.19

注:—表示无。

3 结论与讨论

青砖茶初制、渥堆加工过程中共鉴定出 62 种挥发性风味物质,在鲜叶、杀青、揉捻、晒干、第 1 次翻堆、第 2 次翻堆和自然陈化结束后样品中分别鉴定出 45、41、41、40、43、42 种和 48 种挥发性风味物质。随着加工的进行,挥发性风味物质的种类和含量都有不同程度的变化。在鲜叶至晒干阶段,青砖茶香气含量较高的依次为醛类、醇类、酯类和酮类等化合物,而在渥堆期间受到微生物的作用,烯醛、酮类、甲氧基苯类和呋喃类风味物质明显增加,醇类和酯类风味物质明显减少。分析可知,青砖茶毛茶的主要挥发性风味成分种类是醛类、酮类、甲氧基苯类和醇类等,包括反,反-2,4-庚二烯醛、2-辛烯-1-醛、反,顺-2,6-壬二烯醛、壬醛、苯乙醛、 β -环柠檬醛、 β -紫罗酮、 α -紫罗酮、1,2,3-三甲氧基苯和 α -萘品醇等。 β -紫罗酮、芳樟醇、顺-4-庚烯醛和反,顺-2,6-壬二烯醛等 12 个香气化合物与青砖茶不同加工阶段的风味变化有着直接联系。青砖茶特征香气不仅取决于香气成分的种类和含量,还与嗅觉阈值和相互间协同作用密切相关。

甲氧基苯类化合物是普洱茶的特征香气成分,目前研究认为它们的生成是由于普洱茶中的 EGCG 在氧化降解过程中脱没食子酰基形成没食子酸,而没食子酸的羟基的氢被取代实现甲基化则产生甲氧基苯

的类似结构化合物,另一些研究认为,它们产生于微生物代谢过程所产生的生物热化学作用。甲氧基苯类化合物在青砖茶香气组成中占的比例较小,而烯醛类和酮类化合物则对青砖茶香气发挥着至关重要的作用。醛类等化合物可能是不饱和脂肪酸在微生物的作用下发生了自我氧化和水解反应产生,酮类化合物可能来源于类胡萝卜素的氧化和缩合反应及 β -胡萝卜素的氧化分解反应。本试验分析了青砖茶加工过程中香气成分的种类及含量的变化,关键香气活性化合物在不同阶段的变化,并对主要香气成分和关键加工工艺进行了推理分析,有关其具体的特征香气形成机理及后期贮藏期间香气的转化还有待于进一步深入研究和验证。

参 考 文 献

[1] ZHENG Wen-jun, WAN Xiao-chun, BAO Guan-hu. 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.

[2] 李世刚,郑倩倩,何建刚,等. 湖北青砖茶对 IBS-D 模型大鼠肠道敏感性的影响[J]. 茶叶科学, 2016, (3): 245–249.

[3] 杨新河,吕帮玉,黄明军,等. 青砖茶清除 DPPH·能力及其多酚和黄酮含量研究[J]. 食品研究与开发,

- 2016(23):1-5.
- [4] 李苏. 黑茶提取物对脂肪变性模型的干预及脂质代谢相关基因的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2013.
- [5] CHENG Qian, CAI Sheng-bao, NI De-jiang, et al. In vitro antioxidant and pancreatic α -amylase inhibitory activity of isolated fractions from water extract of Qingzhu tea [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(2): 928-935.
- [6] 龚自明, 郑鹏程, 李传忠, 等. 不同低氟品种青砖茶适制性研究初报[J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(24): 5 690-5 692, 5 712.
- [7] 冯超浩. 不同渥堆工艺条件对普洱茶品质的影响[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- [8] 陈云兰. 茯砖茶“金花菌”的分类鉴定及其对茯砖茶品质的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2004.
- [9] LYU Shi-dong, WU Yuan-shuang, WEI Ji-fu, et al. Application of gas chromatography-mass spectrometry and chemometrics methods for assessing volatile profiles of Pu-erh tea with different processing methods and ageing years[J]. *Rsc Advances*, 2015, 5(107): 87 806-87 817.
- [10] 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.
- [11] CZERNY M, CHRISTLBAUER M, CHRISTLBAUER M, et al. Re-investigation on odour thresholds of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous odorant solutions[J]. *European Food Research and Technology*, 2008, 228(2): 265-273.
- [12] QIN Pei-you, MA Ting-jun, WU Li, et al. Identification of tartary buckwheat tea aroma compounds with gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(6): S401-S407.
- [13] DU Li-ping, LI Jian-xun, LI Wei, et al. Characterization of volatile compounds of pu-erh tea using solid-phase microextraction and simultaneous distillation-extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Research International*, 2014, 57: 61-70.
- [14] LIU Xian-sheng, SHI Chen-fei, XU Xiao-guang, et al. Spatial distributions of β -cyclocitral and β -ionone in the sediment and overlying water of the west shore of Taihu Lake[J]. *Science of The Total Environment*, 2017, 579: 430-438.
- [15] HO Chi-tang, ZHENG Xin, LI Shi-ming. Tea aroma formation[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2015, 4(1): 9-27.
- [16] KUMAZAWA K, MASUDA H. Identification of potent odorants in different green tea varieties using flavor dilution technique[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(20): 5 660-5 663.
- [17] XU Xiang-qun, MO Hai-zhen, YAN Ming-chao, et al. Analysis of characteristic aroma of fungal fermented Fuzhuan brick-tea by gas chromatography/mass spectrophotometry[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2007, 87(8): 1 502-1 504.
- [18] 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.
- [19] YANG Zi-yin, BALDERMANN S, WATANABE N. Recent studies of the volatile compounds in tea[J]. *Food Research International*, 2013, 53(2): 585-599.
- [20] WACHÉ Y, BOSSER-DERATULD A, LHUGUENOT J C, et al. Effect of cis/trans isomerism of β -carotene on the ratios of volatile compounds produced during oxidative degradation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(7): 1 984-1 987.
- [21] LYU Shi-dong, WU Yuan-shuang, LI Chang-wen, 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): 1 810-1 818.
- [22] LYU Shi-dong, WU Yuan-shuang, ZHOU Jiang-sheng, et al. The study of fingerprint characteristics of Dayi Pu-erh tea using a fully Automatic HS-SPME/GC-MS and combined chemometrics method[J]. *PloS one*, 2014, 9(12): e116 428.
- [23] 颜鸿飞, 王美玲, 白秀芝, 等. 湖南茯砖茶香气成分的 SPME-GC-TOF-MS 分析[J]. *食品科学*, 2014, 35(22): 176-180.
- [24] XU Yong-quan, WANG Chao, LI Chang-wen, et al. Characterization of aroma-active compounds of Pu-erh Tea by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and simultaneous distillation-extraction (SDE) coupled with GC-Olfactometry and GC-MS[J]. *Food Analytical Methods*, 2016, 9(5): 1 188-1 198.
- [25] HAN Zhuo-xiao, RANA M M, LIU Guo-feng, et al. Green tea flavour determinants and their changes over manufacturing processes[J]. *Food Chemistry*, 2016, 212: 739-748.
- [26] SHEIBANI E, DUNCAN S E, KUHN D D, et al. SDE and SPME analysis of flavor compounds in Jin Xuan Oolong tea[J]. *Journal of Food Science*, 2016, 81(2): C348-C358.
- [27] SHARMA P, GHOSH A, TUDU B, et al. Detection of linalool in black tea using a quartz crystal microbalance sensor[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2014, 190: 318-325.
- [28] MOUNCHILI A, WICHTEL J J, BOSSET J O, et al. HS-SPME gas chromatographic characterization of volatile compounds in milk tainted with off-flavour[J]. *International Dairy Journal*, 2005, 15(12): 1 203-1 215.

- [29] CHEN Mei-chun, ZHU Yu-jing, LIU Bo, et al. Changes in the volatiles, chemical components, and antioxidant activities of Chinese jasmine tea during the scenting processes[J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20(3): 681–693.
- [30] 张娟静. 不同工艺铁观音香气形成的生化及分子生物学机制研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [31] LIU Guo-yan, XU Suo-yu, WANG Xing-guo, et al. Analysis of the volatile components of tea seed oil (*Camellia sinensis* O. Ktze) from China using HS-SPME-GC/MS [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(12): 2 591–2 602.
- [32] DU Li-ping, WANG Chao, LI Jian-xun, et al. Optimization of headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography – mass spectrometry for detecting methoxyphenolic compounds in Pu-erh tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(3): 561–568.
- [33] LYU Hai-peng, ZHONG Qiu-sheng, LIN Zhi, et al. Aroma characterisation of Pu-erh tea using headspace-solid phase microextraction combined with GC/MS and GC-olfactometry[J]. Food Chemistry, 2012, 130(4): 1 074–1 081.
- [34] LEFFINGWELL J C, LEFFINGWELL D. GRAS flavor chemicals-detection thresholds[J]. Perfumer & Flavorist, 1991, 16(1): 1–19.
- [35] YOUNG C C, SUFFET I H M. Development of a standard method-analysis of compounds causing tastes and odors in drinking water [J]. Water Science and Technology, 1999, 40(6): 279–285.

Analysis of volatile flavor compounds in Qingzhuan tea during primary and pile fermentation process

LIU Pan-pan, ZHENG Peng-cheng, WANG Sheng-peng, GONG Zi-ming*,
TENG Jing, GAO Shi-wei, WANG Xue-ping, YE Fei, ZHENG Lin

1(Institute of Fruit and Tea, Hubei Academy of Agricultural Sciences/Hubei Tea Engineering and
Technology Research Centre, Wuhan 430064, China)

2(Henan Key Laboratory of Tea Comprehensive utilization in South Hennan, Xinyang Agriculture and Forestry University,
Xinyang 46400, China)

ABSTRACT Fresh tea leaves from Chibiquntizhong in Chibi was used to make Qingzhuan tea. Volatile components of Qingzhuan tea during the primary and pile fermentation process were analyzed using headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The result showed that 62 volatile compounds were identified from Qingzhuan tea samples, while 45, 41, 41, 40, 43, 42 and 48 compounds were identified in 7 samples from fresh leaves to the end of pile fermentation. In the previous stage of pile fermentation, aldehydes, alcohols, ethers and ketones had a relatively higher content. However, the relative amount of olefin aldehydes, ketones, methoxybenzene and furans significantly increased, alcohols and ethers obviously decreased which caused by microbial action during pile fermentation. Twelve high OAV (>1) substances have great contribution to the flavor change during the tea fermentation. Pile fermentation was the key step in the formation of volatile flavor compounds in Qingzhuan tea. The characteristic aroma components of Qingzhuan raw tea were include (*E,E*)-2,4-heptadienal, 2-octen-1-al, (*E,Z*)-2,6-nonadienal, nonanal, benzeneacetaldehyde, β -cyclocitral, β -ionone, α -ionone, 1,2,3-trimethoxybenzene and α -terpineol, etc.

Key words Qingzhuan tea; pile fermentation; volatile components; headspace-solid phase microextraction; odor active value