SDE和HS-SPME结合GC-MS分析霍山黄大茶香气成分的比较

朱晓凤，刘政权*，宛晓春，陶 勐，肖志鹏，程淑华
（安徽农业大学茶树生物学与资源利用国家重点实验室，安徽 合肥 230036）

摘 要：分别采用同时蒸馏萃取法（simultaneous distillation and extraction，SDE）和顶空固相微萃取法（headspace-solid phase microextraction，HS-SPME）提取霍山黄大茶中的香气成分，通过气相色谱-质谱定性定量分析，对2 种方法所得的香气成分进行比较。结果表明，2 种方法提取的香气成分和相对含量有很大差异，SDE法检测出的挥发性成分有74 种，HS-SPME法检测到的挥发性成分有76 种，2 种方法共同检出的组分有44 种。糠醛、5-甲基呋喃醛、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、水杨酸甲酯等是构成霍山黄大茶香气的重要物质，2 种方法测出的相对含量都在2%以上。2 种方法特有香气化合物分别有30、32 种，苯乙烯、苯乙醛、顺式芳樟醇氧化物（呋喃）、亚麻酸等仅在SDE法中检出，HS-SPME法中特有苯甲醛、十四烷、香叶基丙酮等香气组分。

关键词：霍山黄大茶；香气；同时蒸馏萃取法；顶空固相微萃取；气相色谱-质谱

Comparison of Simultaneous Distillation and Extraction and Headspace-Solid Phase Microextraction for Analysis of Aroma Components of Huoshan Large-Leaf Yellow Tea by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

ZHU Xiaofeng, LIU Zhengquan*, WAN Xiaochun, TAO Meng, XIAO Zhipeng, CHENG Shuhua
(State Key Laboratory of Tea Plant Biology and Utilization, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: Comparative analysis of the aroma components of Huoshan large-leaf yellow tea was performed by simultaneous distillation and extraction (SDE) and headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that the composition and contents of volatile compounds detected by the two methods were significantly different. A total of 74 compounds were obtained by SDE while 76 compounds by HS-SPME. In total, 44 components were detected by both methods. Furfural, 5-methyIfurfural, 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine and methyl salicylate were important substances that contributed to the unique aroma of large-leaf yellow tea and their relative contents were all over 2% obtained by both methods. Furthermore, 30 (styrene, benzeneacetaldehyde, cis-linaloloxide (furanoid), and linolenicacid) and 32 (benzaldehyde, tetradecane and geranylacetone) aroma components were exclusively detected by SDE and HS-SPME, respectively.

Keywords: Huoshan large-leaf yellow tea; aroma; simultaneous distillation and extraction; headspace-solid phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190110-136

中图分类号：S571.1；TS272 文献标志码：A 文章编号：1002-6630（2020）04-0214-08

引文格式：

朱晓凤, 刘政权, 宛晓春, 等. SDE和HS-SPME结合GC-MS分析霍山黄大茶香气成分的比较[J]. 食品科学, 2020, 41(4): 214-221. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190110-136. http://www.spkx.net.cn

收稿日期：2019-01-10

基金项目：安徽省科技重大专项（18030701141）；现代农业（茶叶）产业技术体系建设专项（CARS-23）；2016—2020年安徽省茶产业体系茶叶深加工岗位专家项目（11250009）

第一作者简介：朱晓凤（1994—）（ORCID: 0000-0003-0776-2924），女，硕士研究生，研究方向为食品资源开发与利用。E-mail: 870902681@qq.com

*通信作者简介：刘政权（1975—）（ORCID: 0000-0003-4147-4117），男，副教授，硕士，研究方向为茶叶深加工与综合利用。E-mail: liuzq0312@163.com

ZHU Xiaofeng, LIU Zhengquan, WAN Xiaochun, et al. Comparison of simultaneous distillation and extraction and headspace-solid phase microextraction for analysis of aroma components of Huoshan large-leaf yellow tea by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2020, 41(4): 214-221. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190110-136. http://www.spkx.net.cn

黄茶是中国六大茶类之一，是我国特有茶类，属轻发酵茶。按照鲜叶原料的嫩度，黄茶又分为黄芽茶、黄小茶和黄大茶，其中黄大茶主要有皖西黄大茶、广东大叶青（已不生产）。皖西黄大茶是黄茶类的大宗产品，主要产自安徽省霍山、金寨、岳西等县，其中又以霍山黄大茶品质最优，在2010年被确定为全国农产品地理标志保护产品，“粗枝大叶、焦糖色、锅巴香”是其品质特点[1]。霍山黄大茶具有降血糖、降脂减肥等保健功效，已经有报道初步揭示了其保健机理。Han Manman等[2]在2016年首次发现黄大茶与绿茶、红茶相比有显著的降血糖功效，Teng Yun等[3]将黄大茶作为膳食补充剂添加到db/db小鼠饮食中，实验结果表明黄大茶膳食补充剂可以改善db/db小鼠的代谢综合征并减轻肝脂肪的变性，证实黄大茶膳食补充剂有潜力成为一种食品添加剂，用以改善II型糖尿病相关症状。另外，Xu Na等[4]通过小鼠实验研究发现黄大茶比绿茶、红茶、黑茶和白茶有更强的降脂功效，并且无论高剂量或低剂量，均有抗高血糖作用。

我国茶园面积分布广阔，茶叶总产量高，但仍然存在很多茶园只采春茶现象，丰富的夏秋茶资源白白浪费。霍山黄大茶鲜叶采摘标准为一芽四、五叶，采摘夏秋时期的成熟叶片和叶梗，这可以极大地利用夏秋茶资源。霍山黄大茶的炒制工艺分为杀青、揉捻、初烘、闷黄和烘焙过程，其中烘焙阶段的拉小火、拉老火工艺对霍山黄大茶至关重要[5]。拉小火时候低温慢烘至九成干，水分挥发缓慢，便于梗叶水分干燥均匀，并促进多酚类化合物自动氧化，叶绿素以及其他物质在热化学作用下缓慢地转化，促进黄叶黄汤的形成。而拉老火是利用高温进一步促进黄变和内质的转化，形成焦糖香味，达到色黄、香高、味浓的高品质要求[1]。霍山黄大茶虽然原料较粗老，但其优异的品质特征对于开发茶叶深加工产品如茶饮料来说十分有利。经过拉小火、拉老火工艺制作出的黄大茶高火香明显、滋味醇和，在以绿茶、红茶、乌龙茶为原料生产的无糖茶饮料易出现滋味熟闷、香气低沉、护色困难的不足[6]上，黄大茶优势突出，可以开发出接近黄大茶原茶风味的茶饮料。

香气是茶叶品质重要的组成部分之一，关于茶叶香气成分的研究已有很多，目前已经从茶叶中鉴定出700多种香气物质[7]。研究方法主要有同时蒸馏萃取法（simultaneous distillation and extraction，SDE）、顶空吸附法（head space analysis，HAS）、超临界CO_2萃取法、减压蒸馏萃取法、固相微萃取法（solid phase microextraction，SPME）等，各有其优缺点[8]。SDE法在茶叶香气研究中应用较早，其操作简便，萃取效率较高，但需要使用化学溶剂，同时萃取温度高，次生反应剧烈，对一些热敏性香气组分影响较大[9-10]。SPME法是一种无溶剂样品前处理技术，样品需求量较少，集采样、萃取、浓缩、进样于一体，与气相色谱-质谱（gas chromatography-mass spectrometry，GC-MS）联用，在目前挥发性成分分析中应用较广，也经常使用在茶叶香气提取中[11-13]。但茶叶香气的大多数研究集中在绿茶、红茶、乌龙茶等茶类，黄茶类研究较少[14-20]，尤其是霍山黄大茶的独特“锅巴香”香气物质研究鲜有报道。

由于茶叶香气成分较为复杂，各种提取方法的原理不同，本实验以霍山黄大茶作为研究对象，采用SDE和HS-SPME两种前处理方法，通过GC-MS分析，比较两种方法所得的香气成分，研究提取方法对霍山黄大茶中挥发性成分的影响，总结霍山黄大茶“锅巴香”的香气组分，为今后霍山黄大茶香气成分的研究提供科学的实验数据和研究手段。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

霍山黄大茶 安徽省霍山县会宾义茶业有限公司；无水乙醚、无水硫酸钠、氯化钠（均为分析纯） 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

7890A-5975C气质联用仪（配G4513自动进样器、MSD Chemstation工作站、NIST11谱库） 美国Agilent公司；手动SPME装置（配有50/30 CAR-DVB-PDMS萃取头） 美国Supelco公司；SDE装置（定制） 中国科技大学玻璃仪器厂；升降恒温水浴锅 常州市万丰仪器制造有限公司；Lauda RA8冷却水循环器 德祥科技有限公司；PTHW-250mL调温控温电热套 郑州华特仪器设备有限公司；YGC-12D圆形氮吹仪 郑州宝晶电子科技有限公司；ME155DU电子天平 瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司；国之源超纯水仪 湖南科尔顿水务有限公司。

1.3 方法

1.3.1 GC-MS条件

色谱条件：色谱柱：DB-5MS石英毛细管柱（30 m×0.25 mm，0.25 μm）。进样口温度：270 ℃。升温程

序：初始柱温60 ℃，保持2 min，以3 ℃/min的速度升至93 ℃；以4 ℃/min的速度升至200 ℃，保持2 min；以1 ℃/min的速度升至204 ℃，保持2 min；以8 ℃/min的速度升至270 ℃，保持4 min。载气：氦气，纯度≥99.999%；流速1 mL/min，分流比3∶1。

质谱条件：电离方式：电子电离源；电离能量：70 eV；离子源温度：230 ℃；扫描范围：40～600 u；溶剂延迟：3 min。谱库检索：NIST11谱库。

1.3.2 测定方法

感官审评：参照GB/T 23776—2018《茶叶感官审评方法》[21]对茶样进行感官审评。称3 g茶样，放于审评杯中，按1∶50茶水比加入沸水150 mL，加盖，冲泡5 min后开汤，先闻香气，再看汤色，尝滋味，最后评叶底，记录审评结果。

SDE：称20 g茶样，加入1 L圆底烧瓶中，再加入沸石、400 mL蒸馏水，电热套加热至微沸。另一边在圆底烧瓶中加入30 mL无水乙醚，水浴45 ℃，回流萃取1.5 h。萃取结束后，等待装置完全冷却，时间约30 min。将乙醚萃取液放入装有10 g 无水硫酸钠的具塞试管中脱水干燥，封口膜密封，放于4 ℃冰箱静置过夜。第2日，转移至氮吹瓶中，氮吹浓缩至1 mL，移入液相小瓶中密封，放于－20 ℃冰箱保存，等待进样。

HS-SPME：称3 g茶样放于100 mL顶空瓶中，茶水比1∶10，加入30 mL的100 ℃饱和氯化钠溶液，冲泡5 min后，放入80 ℃水浴锅中，先平衡5 min，插入已提前老化后的萃取头，吸附60 min，取出待测。

1.4 数据处理

定性分析：利用NIST 11谱库和保留时间、保留指数对所得到的质谱图进行检索定性，并参考文献[24]进行组分比较鉴定。

定量分析：用面积归一化法对各峰面积积分，计算各香气成分峰面积与总峰面积之比，得到各组分的相对含量。

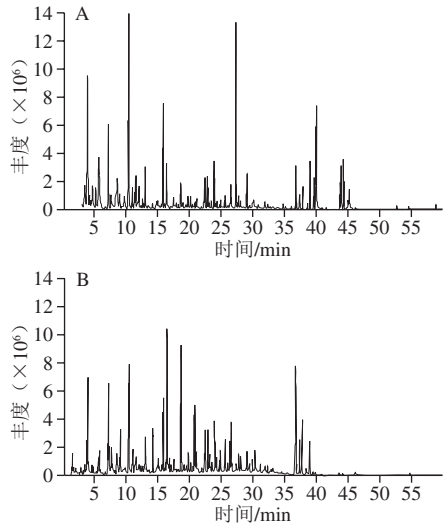
2 结果与分析

2.1 霍山黄大茶的感官审评结果

根据感官审评结果，该批次样品霍山黄大茶汤色橙黄至橙红，明亮；锅巴香气高扬；滋味醇和；叶底棕褐色，叶张大且微卷，梗多。

2.2 SDE和HS-SPME 两种方法提取的霍山黄大茶挥发性成分的差异比较

用SDE法和HS-SPME法分别对霍山黄大茶进行前处理，在相同条件下各重复3 次。用GC-MS进行检测，定性和定量结果见图1及表1。



A. SDE法前处理；B. HS-SPME法前处理。下同。

图1 霍山黄大茶两种提取方法的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of volatile compounds from Huoshan large-leaf yellow tea extracted by SDE and HS-SPME

表1 霍山黄大茶经SDE和HS-SPME前处理后的GC-MS鉴定结果

Table 1 GC-MS identification results of volatile components of Huoshan large-leaf yellow tea by SDE and HS-SPME

编号	保留时间/min	香气物质	相对含量/%		保留指数
			SDE	HS-SPME	
1	2.677	甲苯 toluene	—	0.56±0.06	—
2	3.078	己醛 hexanal	—	0.28±0.04	—
3	3.564	*N*-乙基吡咯 1-ethyl-1*H*-pyrrole	3.76±0.25	0.82±0.02	808.96
4	3.806	甲基吡嗪methylpyrazine	1.31±0.04	0.48±0.02	820.74
5	3.939	糠醛 furfural	16.73±0.56	7.68±0.26	827.22
6	4.315	糠醇 2-furanmethanol	1.28±0.03	0.19±0.02	845.52
7	4.556	乙基苯 ethylbenzene	0.93±0.07	—	857.25
8	4.741	间二甲苯 1,3-xylene	2.65±0.24	1±0.15	866.26
9	5.256	苯乙烯 styrene	2.5±0.21	—	891.33
10	5.381	2-乙基呋喃 2-acetylfuran	—	0.51±0.02	897.42
11	5.712	乙基吡嗪 ethylpyrazine	—	0.67±0.02	908.72
12	6.965	5-甲基呋喃醛 5-methylfurfural	8.78±0.37	7.75±0.31	948.02
13	7.181	苯甲醛 benzaldehyde	—	2.14±0.07	954.8
14	7.648	2-糠酸甲酯 2-furoic acid, methyl ester	1.37±0.07	1.91±0.16	969.45
15	7.913	甲基庚烯酮 methyl heptenone	—	0.34±0.01	977.76
16	8.161	乙酸糠酯 furfurylacetate	—	0.19±0.01	985.54
17	8.428	2-乙基-5-甲基吡嗪 2-ethyl-5-methylpyrazine	—	0.97±0.12	993.91
18	9.016	(*E*,*E*)-2,4-庚二烯醛 (*E*,*E*)-2,4-heptadienal	1.69±0.02	3.73±0.2	1 009.75
19	9.258	*α*-萜品烯 *α*-terpinen	0.25±0.01	—	1 015.74
20	9.551	对异丙基甲苯 *p*-cymene	0.38±0.02	0.76±0.09	1 023
21	9.735	柠檬烯 limonene	1.12±0.07	0.81±0.1	1 027.55
22	9.881	苯甲醇 benzyl alcohol	0.81±0.01	0.9±0.08	1 031.16
23	10.301	苯乙醛 benzeneacetaldehyde	1.34±0.1	—	1 041.56
24	11.039	2-乙酰基吡咯 2-acetyl pyrrole	1.97±0.05	3.64±0.23	1 059.83
25	11.141	苯乙酮 acetophenone	0.36±0.03	0.51±0.02	1 062.35
26	11.319	3,5-辛二烯-2-酮 3,5-octadien-2-one	0.3±0.01	0.53±0.01	1 066.76
27	11.408	顺式芳樟醇氧化物（呋喃） *cis*-linaloloxide (furanoid)	2.95±0.12	—	1 068.96
28	11.555	3-乙基-2,5-二甲基吡嗪 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine	3.12±0.09	2.77±0.27	1 072.6
29	12.074	2,4-二甲基苯乙烯 2,4-dimethyl styrene-	—	0.26±0	1 085.45
30	12.197	2,5-二乙基吡嗪 2,5-diethylpyrazine	0.14±0	—	1 088.49

续表1

编号	保留时间/min	香气物质	相对含量/%		保留指数
			SDE	HS-SPME	
31	12.63	芳樟醇 linalool	0.73±0.01	1.27±0.03	1 099.21
32	12.833	壬醛 nonanal	0.38±0	1±0.09	1 104.1
33	13.069	4-甲氧基-*N*-甲基苯胺 4-methoxy-*N*-methylbenzenamine	2.91±0.08	—	1 109.75
34	13.234	2-吡咯甲酸甲酯 1*H*-pyrrole-2-carboxylicacid, methyl ester	0.26±0	0.67±0.02	1 113.71
35	13.584	*N*-甲基-2-吡咯甲醛 *N*-methylpyrrole-2-carboxaldehyde	0.25±0.02	0.78±0.1	1 122.09
36	13.813	别罗勒烯 alloocimene	0.06±0	—	1 127.58
37	14.201	5-甲基-6,7-二氢-5*H*-环戊并吡嗪 5-methyl-6,7-dihydro-(5*H*)-cyclopentapyrazine	0.46±0.01	—	1 136.88
38	14.487	2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮 2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	0.11±0.01	—	1 143.73
39	14.716	2,3-二乙基-5-甲基吡嗪 2,3-diethyl-5-methylpyrazine	0.23±0.01	—	1 149.22
40	14.844	2-甲基-3,5-二乙基吡嗪 2-methyl-3,5-diethylpyrazine	1.03±0.02	0.92±0.01	1 152.29
41	16.415	水杨酸甲酯 methyl salicylate	2.55±0.03	12.55±0.65	1 189.94
42	16.581	*α*-松油醇 *α*-terpineol	0.27±0	—	1 193.91
43	16.822	十二烷 dodecane	0.14±0	1.33±0.12	1 200
44	16.947	癸醛 decanal	—	1.05±0.06	1 202.95
45	17.787	2,5,6-三甲基-1,3,6-三烯 2,5,6-trimethyl-1,3,6-heptatriene	—	0.73±0.04	1 225.07
46	18.623	1,3-二叔丁基苯 1,3-*bis*(1,1-dimethylethyl)benzene	1.43±0.07	7.86±0.47	1 247.08
47	18.712	香叶醇 geraniol	0.34±0	—	1 249.42
48	20.188	吲哚 indole	0.74±0.02	0.88±0.01	1 288.28
49	20.236	2-甲基萘 2-methylnaphthalene	—	0.51±0	1 289.55
50	20.493	2-甲基喹喔啉 2-methylquinoxaline	0.22±0.01	—	1 296.31
51	20.987	2,4,5-三甲基苯甲醛 2,4,5-trimethylbenzaldehyde	—	0.63±0.03	1 310.15
52	21.254	3,7-二甲基-2,6-辛二烯酸甲酯 3,7-dimethyl-2,6-octadienoic acid, methyl ester	—	0.95±0.11	1 317.81
53	22.421	1,1,6-三甲基-1,2-二氢萘 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene	2.01±0.13	4.13±0.54	1 351.28
54	23.01	3-甲基-十三烷 3-methyltridecane	—	0.72±0.01	1 368.17
55	23.748	1-十四烯 1-tetradecene	—	0.53±0.02	1 389.33
56	24.028	十四烷 tetradecane	—	2.41±0.15	1 400
57	24.132	2,6-二甲基萘 2,6-dimethylnaphthalene	0.37±0.01	—	1 400.37
58	24.578	1,2,3,4-四氢-2,5,8-三甲基萘 1,2,3,4-tetrahydro-2,5,8-trimethylnaphthalene	0.12±0.01	—	1 414.2
59	24.749	*α*-紫罗酮 *α*-ionone	0.34±0.02	1.32±0.13	1 419.5
60	25.523	香叶基丙酮 geranylacetone	—	2.64±0.32	1 443.5
61	26.331	*β*-广藿香烯 *β*-patchoulene	—	0.43±0.04	1 468.56
62	26.575	(*E*)-*β*-紫罗酮 (*E*)-*β*-ionone	1.14±0.04	3.15±0.31	1 476.12
63	26.677	*β*-紫罗兰酮环氧化物 *β*-ionone epoxide	0.46±0.01	1.02±0.07	1 479.29
64	27.253	十五烷 pentadecane	—	0.89±0.02	1 500
65	28.064	二氢猕猴桃内酯 dihydroactinolide	0.56±0.09	1.67±0.17	1 523.84
66	29.572	2,5-二异丙基-对二甲苯 2,5-diisopropyl-*p*-xylene	0.21±0.01	—	1 573.84
67	29.756	水茴香醛 phellandral	0.22±0.01	—	1 579.94
68	30.354	十六烷 hexadecane	0.18±0.01	1.45±0.2	1 600
69	30.551	雪松醇 cedrol	0.21±0.01	0.48±0.05	1 606.67
70	31.538	*α*-芹子烯 *α*-selinene	0.11±0	—	1 641.3
71	31.694	2,2′,5,5′-四甲基联苯 2,2′,5,5′-tetramethylbiphenyl	—	0.64±0.1	1 646.77
72	31.789	*α*-红没药醇氧化物A *α*-bisabololoxide A	—	0.29±0	1 650.11
73	31.881	*α*-红没药醇氧化物B *α*-bisabololoxide B	0.49±0.07	—	1 653.33
74	32.095	2-甲基十六烷 2-methylhexadecane	—	0.4±0.03	1 660.84

续表1

编号	保留时间/min	香气物质	相对含量/%		保留指数
			SDE	HS-SPME	
75	32.591	4-(乙酰苯基)苯甲烷 4-(acetylphenyl)phenylmethane	—	0.33±0.01	1 678.25
76	33.119	十七烷 heptadecane	—	0.43±0.05	1 700
77	33.176	2,6,10,14-四甲基十五烷 2,6,10,14-tetramethylpentadecane	—	0.79±0.05	1 702.12
78	33.834	十四酸甲酯 tetradecanoicacid, methyl ester	0.05±0	0.18±0.01	1 723.1
79	33.844	2-己基-1-癸醇 2-hexyl-1-decanol	—	0.25±0.01	1 723.47
80	34.665	1-十八烯 1-octadecene	—	0.37±0.07	1 753.91
81	34.782	十四酸 tetradecanoicacid	0.42±0.08	—	1 758.25
82	35.215	菲 phenanthrene	0.07±0	—	1 774.3
83	35.902	十八烷 octadecane	0.1±0.01	0.34±0.04	1 800
84	36.675	咖啡因 caffeine	—	2.48±0.82	1 829.91
85	36.932	植酮 perhydrofarnesylacetone	0.56±0.03	0.84±0.06	1 839.94
86	37.235	邻苯二甲酸丁辛酯 1,2-benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester	—	0.21±0.01	1 851.76
87	37.327	邻苯二甲酸二异丁酯 diisobutylphthalate	0.2±0	—	1 855.34
88	38.644	法尼基丙酮 farnesyl acetone	0.25±0.01	0.12±0.01	1 906.77
89	38.93	(Z)-十六烯酸甲酯 (Z)-9-hexadecenoic acid, methyl ester	0.09±0	0.07±0	1 918.04
90	39.064	棕榈酸甲酯 hexadecanoicacid, methyl ester	1.87±0.11	1.57±0.06	1 923.32
91	39.560	异植物醇 isophytol	0.49±0.05	0.16±0	1 942.85
92	39.694	邻苯二甲酸二丁酯 dibutylphthalate	1.24±0.03	0.06±0	1 948.13
93	40.056	棕榈酸 *n*-hexadecanoicacid	10.83±0.76	0.09±0.01	1 962.39
94	40.998	二十烷 eicosane	0.04±0.02	—	2 000
95	41.564	橙花叔醇 nerolidol	0.06±0.01	—	2 017.85
96	43.746	亚油酸甲酯 methyl linoleate	1.52±0.1	0.16±0.01	2 088.28
97	43.788	亚麻酸甲酯 methyl linolenate	2.87±0.16	0.14±0.01	2 089.64
98	43.858	油酸甲酯 methyl oleate	—	0.1±0.01	2 091.9
99	44.300	叶绿醇 phytol	3.02±0.09	0.1±0.01	2 105.03
100	45.063	亚油酸 linoleic acid	1.08±0.16	—	2 125.12
101	45.267	亚麻酸 linolenicacid	2.68±0.32	—	2 130.49
102	46.189	双酚A bisphenolA	0.21±0.01	0.33±0.05	2 154.77
103	52.042	油酸酰胺 oleamide	0.07±0	—	2 353.09
104	52.723	己二酸二异辛酯 *bis*(2-ethylhexyl) adipate	0.19±0.02	—	2 386.54
105	54.858	邻苯二甲酸二辛酯 *bis*(2-ethylhexyl) phthalate	—	0.08±0.01	2 519.73
106	58.900	角鲨烯 squalene	0.27±0.01	—	2 812.72

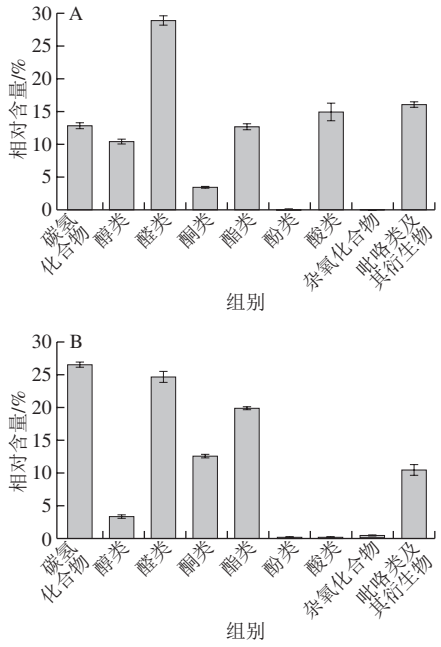
注：相对含量数值为“$\bar{x}\pm s$”；—.未检出。

表1显示，通过GC-MS定性，应用两种前处理方法从霍山黄大茶中提取并鉴定出多种挥发性成分，SDE法检测出的挥发性成分有74 种，HS-SPME法检测出的挥发性成分有76 种，两种方法共同检出的成分有44 种。糠醛、5-甲基呋喃醛、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、水杨酸甲酯等是构成霍山黄大茶香气的重要物质，两种方法测出的相对含量都在2%以上。SDE法分析得到的多是高沸点的香气化合物，如橙花叔醇、顺式芳樟醇氧化物（呋喃）、香叶醇等，HS-SPME法检出的多为中、低沸点且分子质量较小的烷烃、有机酸、呋喃杂环类、脂肪醛等，如2-乙基呋喃、己醛等。

通过SDE和HS-SPME两种方法对霍山黄大茶的香气成分进行分析，两种方法所得香气物质的相对含量差异较大。例如糠醛，SDE法的相对含量为16.73%，而HS-SPME法仅有7.68%；水杨酸甲酯，SDE法的相对含量为

2.55%，而HS-SPME法为12.55%。甚至某些香气物质只在一种提取方法中检出，而另一种方法无法检出，两种方法特有香气化合物分别有30、32 种。如苯乙烯、苯乙醛、顺式芳樟醇氧化物（呋喃）、亚麻酸等在SDE法中含量较高，而HS-SPME法没有检出；苯甲醛、十四烷、香叶基丙酮等在HS-SPME法中检出的含量较高，而SDE法未检出。

2.3 挥发性成分的类别差异比较



A. SDE法；B. HS-SPME法。下同。

图 2 两种方法提取的霍山黄大茶的挥发性物质种类比较

Fig. 2 Comparative contents of volatile classes in Huoshan large-leaf yellow tea detected by SDE and HS-SPME

通过SDE和HS-SPME两种方法，可以发现霍山黄大茶的香气种类主要有：1）醇类物质，如橙花叔醇、糠醇、苯甲醇、叶绿醇、芳樟醇及其氧化物、香叶醇等；2）醛类物质，如己醛、糠醛、(*E*,*E*)-2,4-庚二烯醛等；3）酮类物质，如3,5-辛二烯-2-酮、苯乙酮、*α*-紫罗酮等；4）酯类物质，如2-糠酸甲酯、二氢猕猴桃内酯、水杨酸甲酯等；5）酚类物质，如双酚A；6）酸类物质，如亚麻酸、棕榈酸等；7）碳氢化合物，如间二甲苯、柠檬烯等；8）吡咯类及其衍生物，如2-乙酰基吡咯、N-乙基吡咯、2-乙基-5-甲基吡嗪、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪等；9）杂氧化合物，如2-乙基呋喃。

由图2可见，不同方法检出的霍山黄大茶香气种类及相对含量差异明显。SDE法提取的霍山黄大茶以醛类、吡咯类、碳氢类等为主；HS-SPME法提取的霍山黄大茶以碳氢类、醛类、酯类等为主。结合两种方法，霍山黄大茶香气物质是以碳氢类、醛类、酯类、吡咯类等为主。

从成分的香气特征看，包括芳香族化合物、脂肪族化合物、萜烯类化合物和杂环类化合物，不同的方法所占的比重不同（图3）。用SDE法提取分析的霍山黄大茶杂环类化合物的相对含量占总挥发物的42.70%，比重大；萜烯类化合物的个数较多，但比重不及10%；芳香族化合物和脂肪族化合物的个数相近，但芳香族化合物的比重小于脂肪族化合物。HS-SPME法提取得到的香气成分中，芳香族化合物的个数与SDE法相同，但其比重高于SDE法，达33.46%；萜烯类化合物的个数比SDE法少5 个，但HS-SPME法的比重较大，相差约4%；杂环类化合物和脂肪族化合物的比重低于SDE法，两种方法存在一定差异。

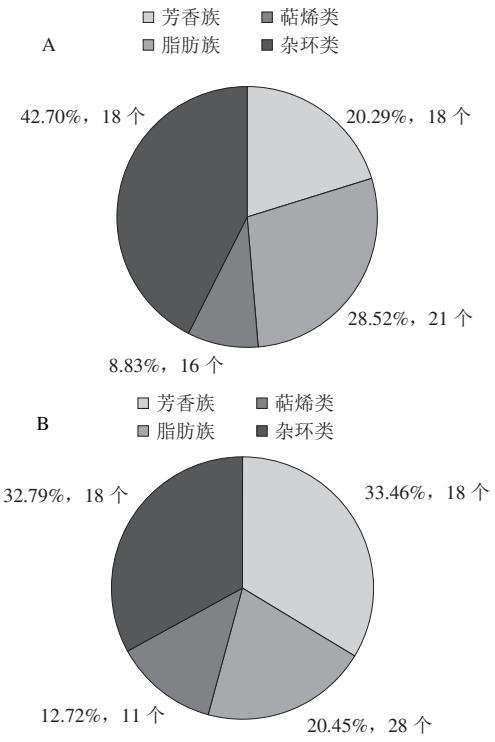


图 3 两种方法提取的成分香气特征归类及香气物质个数

Fig. 3 Aroma characteristics and number of aroma components detected by SDE and HS-SPME

茶叶香气主要是茶鲜叶在茶叶加工过程中进行一系列复杂的生化反应而产生的，不同的茶类其香气特征完全不同，不同的茶树品种、加工工艺，其成品茶的香气成分及含量都存在较大的差异，加工是茶叶香气形成的关键因子[22-25]。易昶寺[26]研究绿茶在不同干燥条件下的香型和香气成分，干燥温度不同，香型也有所不同，主要有清香、栗香、火功味和焦味4 种类型。其中，焦味绿茶香气成分总含量高于其他3 个香型，*N*-乙基吡咯、2,6-二甲基吡嗪、月桂烯、2-乙基-5-甲基吡嗪等随着干燥温度升高含量也在增加，而(*E*)-3-己烯醇、乙苯、正十三烷等降低。Sasaki等[27]研究烤茎茶的香气特征，在与烤叶茶以及没有经过焙烤的茎茶、叶茶相比较发现，烤茎茶中含有丰富的吡嗪类物质且具有高风味稀释因子，香叶

醇和芳樟醇在焙烤过程中含量增加，吡嗪类物质的大量存在与游离氨基酸含量有关，尤其是含酰胺的氨基酸。李颖[28]在研究山东黄大茶加工工艺中，对烘至足干的在制茶进行不同温度的提香处理，发现在130 ℃和140 ℃提香处理下，茶叶表现出焦火香，利用GC-MS检测出温度高于120 ℃时花香及烘烤香成分含量及种类逐渐增加，烃、醇、酸、杂环类含量较高。刘晓慧等[14]通过固相微萃取和气质联用方法研究黄茶香气成分，在检出的108 种香气组分中脂肪族的酯、醇、醛和酮类化合物是茶叶香气的主体部分，通常具有清香或花果香味；虽然含氧化合物、含氮化合物和含硫化合物种类少，含量也较小，但对茶叶香气的贡献较大，如2,5-二甲基吡嗪、2-正戊基呋喃等吡嗪及其衍生物具有明显的烘烤香味，有着极高的香气强度和极低的香气阈值，所以对香气的影响也极为重要。李颖[28]和刘晓慧[14]等从茶叶香气形成与其加工过程分析得到一致结论，研究的黄茶香气组分主要是以热裂解反应途径生成的化合物较多，而以酶促水解、氧化途径生成的化合物较少。钟秋生等[29]将乌龙茶毛茶分别在低火（80 ℃）、中火（100 ℃）和高火（120 ℃）条件下进行烘焙，通过HS-SPME-GC-MS检测挥发性成分，在乌龙茶的烘焙过程中，一些具有清新花香的香气组分随着烘焙温度的升高而降低，而具有焦气和焦味物质的苯乙腈、邻甲基苯甲腈等含氮物质却随着烘焙温度的升高而增加。其中具有烘炒香的化合物糠醛在高温烘焙茶样中检测出，它是氨基酸、糖类以及儿茶素成分在热作用下形成的。Ho等[30]综述了在茶叶生产过程中，通过美拉德反应生成许多杂环类化合物如呋喃、吡咯、噻吩及其衍生物。在茶叶发酵、干燥等加工阶段，氨基酸通过Strecker降解与羰基化合物反应形成醛类化合物。一些Strecker醛非常不稳定，它们容易通过环化、偶联或脱水而分解成其他挥发物。如茶叶中的茶氨酸与己糖或戊糖之间通过美拉德反应生成糠醛和5-甲基糠醛。Mizukami等[31]研究日本焙茶中特征性风味烘烤香，主要是杂环类化合物，如吡嗪，而美拉德反应是吡嗪产生的关键途径。在160 ℃和180 ℃烘焙处理的焙茶中，含量较高的香气物质是2-乙基-3,6-二甲基吡嗪、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪和吡咯-2-甲醛。其中2-乙基-3,6-二甲基吡嗪、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪的气味阈值低，是焙茶中重要的风味物质，有烘烤和焦糖的风味。而吡咯-2-甲醛表现为烟焦味，随着烘焙时间的延长而增加。在美拉德反应中，烷基吡嗪是一类十分稳定的产物，在烘焙过程中缓慢增加并保持稳定。2-乙基-3,6-二甲基吡嗪、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪的生成和茶叶中的丙氨酸有关，Strecker醛参与其中的亲核加成反应。因此可以推断霍山黄大茶“锅巴香”的香气成分形成于拉小火和拉老火的关键加工阶段，糖和氨基酸参与的美拉德反应剧烈，杂环化合物生成较多，尤其是低风味阈值的吡嗪类物质，所以霍山黄大茶烘烤香明显。

3 讨 论

SDE法和HS-SPME法的萃取机理不同，得到的香气成分差异较大。虽然两种方法提取的成分在数量上较接近，但在香气物质的种类和相对含量上有较大差异。SDE法在提取挥发性成分方面，效率更高，但在提取时是处于一个密闭的空间，同时萃取温度相对较高，溶液一直保持沸腾的状态，与正常冲饮茶叶有很大不同。在这种高温密闭的环境中反复进行萃取浓缩，茶叶香气会产生变化，有部分失真，比如一些热敏感性的香气成分会受热分解，结构发生变化，不饱和的脂肪酸也会因受热降解生成一些脂肪醛和醇等，因此SDE法提取得到的香气物质与茶叶实际香气有一定差距[24]。SDE法得到的醇类相对含量高于HS-SPME法，橙花叔醇、顺式芳樟醇氧化物（呋喃）、*α*-松油醇、香叶醇等是SDE法特有的成分，这些可能是在蒸馏萃取中糖苷类前体物质如芳樟醇基-樱草糖甙、香叶基-*β*-樱草糖甙等水解产生。其中顺式芳樟醇氧化物（呋喃）相对含量较高，有可能是芳樟醇在蒸馏过程中受热被氧化形成的[25]。SDE法得到的杂环类化合物也相对较高，可能是加热过程中产生美拉德反应加剧生成一些N、O、S杂环化合物如呋喃、吡嗪类等。

HS-SPME法中，样品注入沸水冲泡5 min，再放置于80 ℃水浴锅内保温，这可以更好地模拟日常生活中冲饮茶叶的习惯，相对于SDE法而言是一种温和的环境，可以在一定程度上避免香气成分在高温条件下发生物理化学反应。但HS-SPME法的提取效率与萃取头的涂层材料也有很大关系，涂层材料必须热稳定性好、耐溶剂、耐酸碱，对目标化合物有一定的富集萃取能力，能较快地解吸出来。目前CAR-DVB-PDMS萃取头具有极性和非极性涂层，吸附范围较广，在研究茶叶香气时使用较多[32]。HS-SPME法检出的醇类、酚类和酸类相对含量较少，可能是萃取温度不高导致一些高沸点的香气成分没有挥发出来，也可能是在萃取过程中一系列反应生成酮类、酯类化合物[33]。同时HS-SPME法提取得到的低沸点及热不稳定的化合物相对含量高于SDE法，如二氢猕猴桃内酯、芳香族等香气成分，其中芳香族的水杨酸甲酯相对含量远高于SDE法，苯甲醛只在HS-SPME法中检出。

目前关于茶叶香气成分的检测技术有很多种，包括GC-MS、气相色谱-嗅闻技术、气相色谱-氢火焰离子化检测器（gas chromatography with hydrogen flame ionization detection，GC-FID）、电子鼻等。GC-MS具有分离效率高、鉴别能力强、易于定性等优点，在茶叶香

气分析中应用广泛，但MS在定量方面需要对校正因子进行测定，需要有相应的标准品，且比较费时。相较于GC-MS，GC-FID在茶叶香气检测中使用较少，但FID具有结构简单、稳定性更好、灵敏度更高、响应迅速等特点，并且可以直接进行定量分析。不过FID也有其缺点，它对无机气体（如N_2、CO、CO_2、O_2）、水、四氯化碳等含氢少或不含氢的物质灵敏度低，甚至不响应[7]。现在对茶叶挥发性化合物含量的确定中，多是采取MS定量，FID起辅助作用。刘佳妮[34]利用TD-GC-MS-FID法对4 种香型的大红袍挥发性成分含量进行比较，应用GC-MS和FID确定挥发性化合物，并进行相对定量。Joshi等[35]在研究脱咖啡因红茶时，通过GC-MS、GC-FID和芳香萃取物稀释分析方法发现11 种强烈的香气化合物。沈春松等[36]为测定红茶汤中的芳樟醇和香叶醇成分，建立了一种不需要提取和浓缩香气成分，利用GC-FID直接测定的方法，线性相关性达0.999以上。未来，随着检测技术的发展和完善，预测FID在茶叶香气成分研究中的应用会更加普遍，这对茶叶香气成分的准确定量有很大的帮助。

本实验通过GC-MS对霍山黄大茶的香气组分进行研究，结果表明霍山黄大茶香气中杂环化合物，尤其是吡咯类及其衍生物的数量和相对含量较大。霍山黄大茶的烘焙阶段，类似于乌龙茶的焙火工序，都是在高温环境下，茶叶内容物发生美拉德反应、焦糖化反应等，茶叶中的糖类、氨基酸、儿茶素等都参与其中的反应。陈泉宾等[37]发现在乌龙茶烘焙过程中，氨基酸和多酚类物质随着焙火温度的升高而含量下降，茶叶褐变速度加快，火功香越明显。陈泉宾等[38]还研究发现不同等级的茶叶产生以吡嗪类化合物为代表的火功香的焙火温度不一致，与原料氨基酸含量的多寡紧密相关，原料为开面二、三叶的乌龙茶氨基酸含量较低，需要更高的温度为美拉德反应提供条件，从而形成火功香。霍山黄大茶鲜叶采摘标准与乌龙茶相似，夏秋时期的茶叶氨基酸含量较低，拉小火和拉老火工艺均需要较高的温度，尤其是拉老火的火候更高，对最后成品茶的品质要求需达到茶梗一折就断，梗心呈菊花状，叶色黄褐，焦香显露。

4 结 论

不同提取方法得到的香气成分及相对含量有很大差异。SDE法得到的霍山黄大茶香气成分特征是*N*-乙基吡咯、糠醛、5-甲基呋喃醛、棕榈酸相对含量较多，并特有顺式芳樟醇氧化物（呋喃）、4-甲氧基-*N*-甲基苯胺、苯乙烯、亚麻酸等成分；HS-SPME法得到的霍山黄大茶香气成分特征是糠醛、5-甲基呋喃醛、水杨酸甲酯、1,3-二叔丁基苯、1,1,6-三甲基-1,2-二氢萘相对含量较多，且含有苯甲醛、十四烷、香叶基丙酮等特有成分。

从成分类别看，SDE法提取的成分种类是碳氢化合物、酯类、吡咯类及其衍生物居多，而相对含量上是醛类、酸类、吡咯类及其衍生物较大；HS-SPME法提取的成分种类以碳氢化合物、酯类、酮类较多，相对含量较大的是碳氢化合物、醛类、酯类。SDE法提取得到的杂环类化合物比重大，萜烯类化合物比重少；HS-SPME法中比重较大的是芳香族化合物和杂环类化合物。

烘焙工序对霍山黄大茶锅巴香的形成至关重要。在高温处理下美拉德反应剧烈，以氨基酸为反应底物，以及热裂解、异构化等途径，呋喃、吡咯及吡嗪类化合物生成并占优势，因此奠定了霍山黄大茶锅巴香、火功香的香气特征。综合两种方法，糠醛、5-甲基呋喃醛、水杨酸甲酯、吡咯及吡嗪类化合物是霍山黄大茶的主要特征成分。

参考文献：

[1] 夏涛. 制茶学[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2016: 148-149.

[2] HAN M M, ZHAO G S, WANG Y J, et al. Safety and anti-hyperglycemic efficacy of various tea types in mice[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 31703. DOI:10.1038/srep31703.

[3] TENG Y, LI D X, GURUVAIAH P, et al. Dietary supplement of large yellow teaameliorates metabolic syndrome and attenuates hepatic steatosisin db/db mice[J]. Nutrients, 2018, 10(1): 75. DOI:10.3390/nu10010075.

[4] XU N, CHU J, WANG M, et al. Large yellow tea attenuates macrophage-related chronic inflammation and metabolic syndrome in high-fat diet treated mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(15): 3823-3832. DOI:10.1021/acs.jafc.8b00138.

[5] 衡永志, 徐志明, 唐应芬. 霍山黄大茶[J]. 茶业通报, 2007, 29(1): 46-46. DOI:10.16015/j.cnki.jteabusiness.2007.01.021.

[6] 李洁, 董昕阳, 冯瑛, 等. 液体茶饮料品质研究进展及发展展望[J]. 中国茶叶加工, 2018(2): 23-27. DOI:10.15905/j.cnki.33-1157/ts.2018.02.009.

[7] 施莉婷, 江和源, 张建勇, 等. 茶叶香气成分及其检测技术研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(12): 347-351. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2018.12.062.

[8] 王梦琪, 朱荫, 张悦, 等. 茶叶挥发性成分中关键呈香成分研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(23): 341-349. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181015-132.

[9] ALAIN C. Simultaneous distillation-extraction: from birth to maturity-review[J]. Flavour & Fragrance Journal, 2001, 16(2): 136-148. DOI:10.1002/ffj.967.

[10] 朱旗, 施兆鹏, 任春梅. 绿茶香气不同提取方法的研究[J]. 茶叶科学, 2001, 21(1): 38-43. DOI:10.3969/j.issn.1000-369X.2001.01.010.

[11] HIROYUKI K, HEATHER L L, JANUSZ P. Applications of solid-phase microextraction in food analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 880(1/2): 35-62. DOI:10.1016/S0021-9673(00)00309-5.

[12] 龙立梅, 宋沙沙, 李柰, 等. 3 种名优绿茶特征香气成分的比较及种类判别分析[J]. 食品科学, 2015, 36(2): 114-119. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201502022.

[13] 李春美, 窦宏亮, 党美珠, 等. 绿茶茶汤香气成分提取方法的比较研究[J]. 食品科技, 2009(10): 99-103.

[14] 刘晓慧, 张丽霞, 王日为, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用法分析黄茶香气成分[J]. 食品科学, 2010, 31(16): 239-243. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201402036.

[15] 廉明, 吕世懂, 吴远双, 等. 顶空固相微萃取气质联用技术分析两种黄茶的香气成分研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(11): 281-286. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.11.048.
[16] 李瑾, 黎娜, 李照莹, 等. 黄茶品质影响因素及香气研究进展[J]. 茶叶通讯, 2015, 42(2): 3-6. DOI:10.3969/j.issn.1009-525X.2015.02.001.
[17] 尹鹏, 刘威, 刘盼盼, 等. 黄茶及其茶毫挥发性成分分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(2): 270-274. DOI:10.3969/j.issn.2095-0381.2018.02.010.
[18] 刘晓慧, 王日为, 张丽霞, 等. 山东黄茶加工工艺的研究[J]. 中国茶叶加工, 2010(2): 27-30.
[19] 速晓娟, 郑晓娟, 杜晓, 等. 蒙顶黄芽主要成分含量及组分分析[J]. 食品科学, 2014, 35(12): 108-114. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201412021.
[20] 范培珍, 王梦馨, 崔林, 等. 不同等级霍山黄芽茶叶香气成分定性定量分析与评价[J]. 热带作物学报, 2018, 39(3): 595-599. DOI:10.3969/j.issn.1000-2561.2018.03.030.
[21] 国家标准化管理委员会. 茶叶感官审评方法: GB/T 23776—2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
[22] 王力, 林智, 吕海鹏, 等. 茶叶香气影响因子的研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(15): 293-298. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201015064.
[23] 石渝凤, 邸太妹, 杨绍兰, 等. 花香型红茶加工过程中香气成分变化分析[J]. 食品科学, 2018, 39(8): 167-175. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201808027.
[24] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2008: 401-409.
[25] 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. DOI:10.3969/j.issn.1000-2561.2012.09.034.
[26] 易昶寺. 不同干燥条件对茶叶化学成分及香气的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2014: 12-19.
[27] SASAKI T, KOSHI E, TAKE H, et al. Characterisation of odorants in roasted stem tea using gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometryanalysis[J]. Food Chemistry, 2017, 220: 177-183. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.09.208.
[28] 李颖. 山东黄大茶加工工艺研究[D]. 济南: 山东农业大学, 2014: 31-39.
[29] 钟秋生, 林郑和, 陈常颂, 等. 烘焙温度对九龙袍品种乌龙茶生化品质的影响[J]. 茶叶科学, 2014, 34(1): 9-20. DOI:10.3969/j.issn.1000-369X.2014.01.003.
[30] HO C T, ZHENG X, LI S M. Tea aroma formation[J]. Food Science & Human Wellness, 2015, 4(1): 9-27. DOI:10.1016/j.fshw.2015.04.001.
[31] MIZUKAMI Y, SAWAI Y, YAMAGUCHI Y. Changes in the concentrations of acrylamide, selected odorants, and catechinscaused by roasting of green tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(6): 2154-2159. DOI:10.1021/jf0731806.
[32] 邓静, 王远兴, 毛雪金, 等. 固相微萃取(SPME)在茶叶香气分析中的应用[J]. 食品工业科技, 2014, 35(2): 346-349. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2014.02.061.
[33] 苏新国, 蒋跃明, 汪晓红, 等. 顶空固相微萃取分析凤凰单枞乌龙茶香气组分[J]. 食品科学, 2005, 26(11): 193-196. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2005.11.049.
[34] 刘佳妮. 大红袍四种香韵组分分析[J]. 饮料工业, 2018, 21(6): 16-21. DOI:10.3969/j.issn.1007-7871.2018.06.004.
[35] JOSHI R, BABU G D K, GULATI A. Effect of decaffeination conditions on quality parameters of Kangra orthodox black tea[J]. Food Research International, 2013, 53(2): 693-703. DOI:10.1016/j.foodres.2012.12.050.
[36] 沈春松, 姚射月, 胡银凤, 等. 氢火焰离子化检测器测定红茶汤中香气成分芳樟醇、香叶醇的研究[J]. 饮料工业, 2015, 18(2): 20-22. DOI:10.3969/j.issn.1007-7871.2015.02.007.
[37] 陈泉宾, 陈键, 王丽丽, 等. 烘焙工艺对乌龙茶糖氨Maillard反应及风味的影响[J]. 茶叶学报, 2018, 59(1): 33-37. DOI:10.3969/j.issn.1007-4872.2018.01.007.
[38] 陈泉宾, 邬龄盛, 王振康. 烘焙工艺对乌龙茶美拉德反应产物的影响[J]. 茶叶学报, 2014(4): 29-31. DOI:10.3969/j.issn.1007-4872.2014.04.007.