

基于电子鼻与HS-SPME-GC-MS技术对不同产地黄观音乌龙茶香气差异分析

邵淑贤¹, 徐梦婷¹, 林燕萍², 陈潇敏¹, 方德音³, 蔡捷英³, 王金焕³, 金珊^{1,*}, 叶乃兴^{1,*}

(1.福建农林大学园艺学院, 福建 福州 350002; 2.武夷学院茶与食品学院, 福建 武夷山 354300;

3.云霄县茶叶科学研究所, 福建 漳州 363300)

摘要:为探究不同产地黄观音乌龙茶品质的差异, 采用电子鼻结合顶空固相微萃取-气相色谱-质谱(headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)联用仪, 对云霄和武夷山生产的黄观音乌龙茶香气成分进行分析。电子鼻实验结果表明, 正交偏最小二乘判别分析能较好地区分两地黄观音乌龙茶。HS-SPME-GC-MS实验结果显示, 两地黄观音乌龙茶共测出79个香气成分, 其中17个差异香气物质可用于黄观音乌龙茶产地区分。香气活性值(odor activity value, OAV)分析结果表明, 具有花香特征的茉莉酸甲酯、吲哚、茉莉酮、反式-橙花叔醇和茉莉内酯等香气成分在云霄黄观音中OAV较为突出, 而具有花果香气特征的芳樟醇、癸醛、月桂烯、异戊醛和己醛等香气成分在武夷黄观音中OAV较为突出; 产地判别结果表明, 基于17个差异香气物质构建的支持向量机(support vector machine, SVM)模型判别率达到83.33%, 其中5个重要香气成分(芳樟醇、反式-橙花叔醇、茉莉内酯、茉莉酸甲酯和吲哚)构建的SVM模型判别率为100%。本研究利用HS-SPME-GC-MS技术, 筛选出与云霄黄观音和武夷黄观音乌龙茶品质相关的差异香气物质, 并构建产地判别模型, 为阐明两地黄观音乌龙茶的香气特征提供参考。

关键词:黄观音; 乌龙茶; 产地判别; 电子鼻; 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用仪

Differential Analysis of Aroma Components of Huangguanyin Oolong Tea from Different Geographical Origins Using Electronic Nose and Headspace Solid-Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry

SHAO Shuxian¹, XU Mengting¹, LIN Yanping², CHEN Xiaomin¹, FANG Deyin³, CAI Jieying³, WANG Jinhuan³, JIN Shan^{1,*}, YE Naixing^{1,*}

(1. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2. College of Tea and Food Science, Wuyi University, Wuyishan 354300, China;

3. Yunxiao Institute of Tea Science, Zhangzhou 363300, China)

Abstract: To investigate the differences in the quality of Huangguanyin oolong tea from different geographical origins, the aroma composition of Huangguanyin oolong tea produced in Yunxiao and Wuyishan was analyzed by using electronic nose and headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). The electronic nose data showed that orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) could distinguish Huangguanyin oolong tea from different geographical origins. By HS-SPME-GC-MS, a total of 79 aroma components were identified, of which 17 aroma components were found to be significantly different between the two production regions and therefore could be used to distinguish the geographical origin of Huangguanyin oolong tea. According to odor activity values (OAV), methyl jasmonate, indole, jasmonone, *E*-nerolidol and jasmonolactone contributed greatly to the floral aroma of Yunxiao Huangguanyin tea, while linalool, decanal, laurelene, isovaleraldehyde and hexanal contributed greatly to the floral and fruit

收稿日期: 2022-04-13

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-19); 云霄黄观音品质特征研究项目(KH210229A); 福建张天福茶叶发展基金会科技创新基金项目(FJZTF01)

第一作者简介: 邵淑贤(1998—)(ORCID: 0000-0003-1236-2132), 女, 硕士研究生, 研究方向为茶叶功能成分与品质化学。
E-mail: 2625831366@qq.com

*通信作者简介: 金珊(1982—)(ORCID: 0000-0002-2343-9134), 女, 副教授, 博士, 研究方向为茶叶质量安全与品质化学。
E-mail: jinshan0313@163.com

叶乃兴(1963—)(ORCID: 0000-0003-2955-2813), 男, 教授, 硕士, 研究方向为茶树栽培育种和品质化学。
E-mail: ynxtea@126.com

aroma of Wuyi Huangguanyin tea. The results of geographical origin authentication showed that the discrimination accuracy of the support vector machine (SVM) model based on the 17 differential aroma compounds was only 83.33%, compared to 100% based on five important aroma components (linalool, *E*-lactone, jasmonolactone, methyl jasmonate and indole). Our results will provide useful information for elucidating the quality characteristics of Huangguanyin oolong tea from Yunxiao and Wuyishan.

Keywords: Huangguanyin; oolong tea; geographical origin authentication; electronic nose; headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220413-160

中图分类号: TS272

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2023) 04-0232-08

引文格式:

邵淑贤, 徐梦婷, 林燕萍, 等. 基于电子鼻与HS-SPME-GC-MS技术对不同产地黄观音乌龙茶香气差异分析[J]. 食品科学, 2023, 44(4): 232-239. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220413-160. <http://www.spkx.net.cn>

SHAO Shuxian, XU Mengting, LIN Yanping, et al. Differential analysis of aroma components of Huangguanyin oolong tea from different geographical origins using electronic nose and headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2023, 44(4): 232-239. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220413-160. <http://www.spkx.net.cn>

福建是我国最大的产茶省, 乌龙茶作为第三大茶类, 主要产区集中于闽北、闽南、广东及中国台湾等地, 如武夷岩茶、铁观音、凤凰单丛和东方美人等^[1]。由于茶树品种、产地和加工工艺等诸多因素影响, 各种乌龙茶形成了独特的品质特征, 香气作为评价茶叶品质的重要感官因素之一, 也是决定茶叶香型的主要依据^[2-3]。黄观音是福建省农业科学院茶叶科学研究所从铁观音(♀)和黄旦(♂)人工杂交F₁代中单株选育成的高香型国家级优良茶树品种。采用黄观音鲜叶原料制成的乌龙茶品质优异, 滋味醇厚甘爽, 香气特征趋向父本^[4]。黄观音是福建省的主栽茶树品种之一, 在云霄、武夷山等地大面积种植, 茶叶具有明显的地域特色和品质特征, 其市场认可度和消费者喜爱程度也各有不同。近年来茶叶区域品牌建设越来越受到人们重视, 因此对不同产地茶叶香气品质差异的研究具有一定的研究意义和研究价值。

茶叶香气成分易挥发, 提取过程中易受外界条件影响, 有效的香气测定方法至关重要。电子鼻是一种快速无损检测的新型人工智能嗅觉装置, 但是无法分离、鉴定样品的香气成分^[5]。顶空固相微萃取(headspace solid-phase microextraction, HS-SPME)法在香气富集过程实现自动化, 具有便捷、快速等优点, HS-SPME-气相色谱-质谱(HS-SPME-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)通常用于检测和鉴定茶叶香气成分^[6-8]。吕世懂等^[9]研究发现, 不同产区的乌龙茶香气成分差异很大, 并与加工工艺存在一定关联。嵇伟彬等^[2]对不同产区有代表性的乌龙茶样品分析结果表明, 乌龙茶感官香型可能与品种、加工工艺密切相关。目前乌龙茶香气对不同品种、产地和加工工艺等方面综合比较研究较多, 而关于同一茶树品种不同产地乌龙茶

香气物质的比较研究相对较少, 尤其关于黄观音乌龙茶特征香气成分的产地差异鲜有报道。

云霄黄观音乌龙茶品质优异, 独具“花香蜜韵”, 云霄县已将“云霄黄观音”打造成茶叶公共品牌, 武夷山作为乌龙茶的发源地, 在茶叶发展史上具有重要地位^[10]。因此, 为更全面地了解不同产地对黄观音乌龙茶品质的影响, 本研究选取云霄黄观音和武夷黄观音乌龙茶样品, 采用电子鼻与HS-SPME-GC-MS对其香气特征进行测定分析, 并建立黄观音乌龙茶的产地判别模型, 旨在为两地黄观音乌龙茶的品质差异和产地鉴别提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试样品为2020年与2021年4月中上旬黄观音乌龙茶; 鲜叶采摘标准为开面采, 采至三四叶嫩梢; 云霄黄观音结合闽南乌龙茶与闽北乌龙茶工艺, 其工序为: 萎凋→做青→杀青→揉捻→干燥; 武夷黄观音采用闽南乌龙茶工艺, 其工序为: 萎凋→做青→杀青→揉捻→烘焙。云霄黄观音乌龙茶由云霄县茶叶科学研究所分别提供10份2020年和10份2021年市售代表性茶样, 武夷黄观音乌龙茶由武夷学院茶与食品学院分别提供10份2020年和10份2021年市售代表性茶样。

氯化钠(分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; 正己烷(色谱纯) 德国Merck公司; 标准品(色谱纯) 美国BioBioPha/Sigma-Aldrich公司。

1.2 仪器与设备

iNose型电子鼻 上海昂申智能科技有限公司; 8890-5977B GC-MS联用仪、120 μm DVB/CAR/PDMS

萃取头、DB-5MS毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm) 美国安捷伦公司; MM400球磨仪 德国Retsch公司; MS105DU电子天平 美国Mettler Toledo公司; 固相微萃取装置、老化装置、样品加热箱 瑞士思特斯分析仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 电子鼻测定

1.3.1.1 样品前处理

将黄观音乌龙茶样品经研磨后过40目筛, 称取3.00 g(精确值0.001 g)茶粉于60 mL顶空瓶中, 在65 °C水浴锅内平衡50 min后开始检测。

1.3.1.2 电子鼻检测参数

气体流量为0.40 L/min; 采样时间为300 s; 进样准备等待时间为15 s; 样品清洗时间为300 s; 操作环境温度26 °C。

1.3.2 GC-MS测定

1.3.2.1 样品前处理

将黄观音乌龙茶样品经液氮研磨后, 涡旋混合均匀, 称取约1.00 g样品, 加入含有饱和氯化钠溶液和10 μL(50 μg/mL)正丁烷内标溶液的15 mL顶空瓶中, 并使用配备硅胶顶空隔垫的钳口盖密封顶空瓶。顶空瓶于100 °C恒温条件下振荡5 min后, 进行全自动HS-SPME样本萃取。

1.3.2.2 HS-SPME条件

萃取头在老化装置中, 250 °C温度下老化5 min后, 插入样品顶空瓶中, 顶空萃取15 min, 并在250 °C下解吸5 min, 进行GC-MS分离鉴定。

1.3.2.3 GC-MS条件

GC条件: DB-5MS毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 起始温度40 °C, 保持3.5 min; 以10 °C/min升至100 °C; 再以7 °C/min升至180 °C; 最后以25 °C/min升至280 °C, 保持5 min。不分流进样模式下, 载气(氦气)为恒流1.2 mL/min(纯度不小于99.999%); 溶剂延迟3.5 min; 进样口温度250 °C。

MS条件: 电子电离源; 离子源、四极杆和质谱接口温度分别为230、150 °C和280 °C; 电子能量70 eV, 扫描方式为全扫描模式; 质量扫描范围 m/z 50~500。

1.4 数据处理

基于MWGC数据库, 对样本的代谢物进行质谱定性, 定量通过与内标物的峰面积比较, 得到香气成分的含量, 单位为μg/g, 即: 香气成分含量=香气成分物质峰面积×内标物含量/内标物峰面积。Origin 2018软件绘制雷达图、指纹图谱; TTools绘制热图; SIMCA 14.1软件进行正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA), 计算预测变量重要性投影(variable importance in projection,

VIP); 并结合SPSS 24.0软件进行单因素分析, 以 $P<0.05$, $VIP\geq 1$ 为条件筛选差异香气成分; 利用R软件“factoextra”包进行主成分分析(principal component analysis, PCA)结果提取和可视化作图, 结合支持向量机(support vector machine, SVM)分类方法建立黄观音乌龙茶产地判别模型。

2 结果与分析

2.1 基于电子鼻技术的不同产地黄观音乌龙茶品质差异分析

如图1所示, 两地黄观音乌龙茶在得分散点图的横轴上实现了产地区分, 自变量拟合指数(R_x^2)为0.999, 因变量拟合指数(R_y^2)为0.863, 模型预测指数(Q^2)为0.777, 对两地黄观音乌龙茶的预测率为77.7%。其中, 云霄黄观音均匀分布在横轴的负半轴, 武夷黄观音均匀分布在横轴的正半轴。同产地的黄观音乌龙茶重复性良好, 说明不同产地黄观音乌龙茶香气存在一定区别。

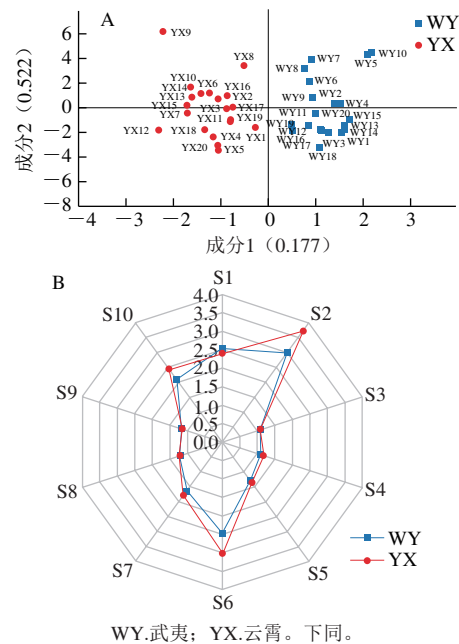


图1 不同产地黄观音乌龙茶电子鼻的OPLS-DA (A) 及雷达图 (B)
Fig. 1 OPLS-DA plot (A) and radar chart (B) of Huangguanyin oolong tea from different geographical origins

结合表1数据绘制的电子鼻特征气味雷达指纹图(图1B), 可看出10个传感器对两地黄观音乌龙茶挥发性成分的响应值不同。在10个传感器中, S2、S4、S5、S6和S10这5个传感器对云霄黄观音响应值显著高于武夷黄观音($P<0.05$, $VIP>1$), 认为这些传感器可能在本实验OPLS-DA模型中的贡献较大, 其中S4传感器对有机溶剂敏感, 而茶叶中的常见芳香物质种类(醇类、醛类、酮类、酯类及含氮化合物)也被包含于有机溶剂中^[5]。

表1 不同产地黄观音乌龙茶的电子鼻响应值

Table 1 Electronic nose response values for Huangguanyin oolong tea from different geographical origins

传感器编号	对敏感、挥发性气体 ^[5,11]	响应值		P值	VIP值
		云霄黄观音	武夷黄观音		
S1	胺类、氨气	2.40±0.19	2.52±0.28	0.117	0.840
S2	硫化物、硫化氢	3.73±0.57	2.30±0.46	0.000	1.268
S3	氢气	1.08±0.02	1.08±0.01	0.689	0.717
S4	有机溶剂、酒精	1.18±0.10	1.10±0.03	0.001	1.141
S5	食物烹调过程中的挥发性气体	1.36±0.09	1.30±0.06	0.010	1.010
S6	沼气、碳氢化合物、甲烷	3.02±0.48	2.50±0.37	0.000	1.200
S7	可燃性气体	1.80±0.20	1.65±0.17	0.140	0.995
S8	VOC (多用于环境气体污染检测)	1.22±0.03	1.22±0.02	0.929	0.708
S9	汽油、煤油、氢氧化物	1.17±0.05	1.17±0.05	0.911	0.708
S10	可燃性气体、烷烃	2.46±0.34	2.10±0.26	0.001	1.191

注：数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。表2、3同。

2.2 不同产地黄观音乌龙茶香气成分特征分析

表2 不同产地黄观音乌龙茶的香气成分

Table 2 Aroma components of Huangguanyin oolong tea from different geographical origins

编号	保留时间/min	CAS	香气成分	含量/($\mu\text{g/g}$)		P值	VIP值
				云霄黄观音	武夷黄观音		
1	4.82	71-41-0	戊醇	0.78±0.18	0.85±0.29	0.333	0.76
2	4.98	616-25-1	1-戊烯-3-醇	0.82±0.22	1.08±0.40	0.016	1.152
3	9.03	111-27-3	己醇	0.09±0.04	0.14±0.11	0.131	0.925
4	10.23	100-51-6	苯甲醇	1.19±0.17	1.44±0.58	0.067	0.98
5	10.92	5989-33-3	芳樟醇氧化物II	5.80±2.50	6.39±4.08	0.585	0.792
6	11.43	78-70-6	芳樟醇	2.34±0.72	3.11±0.91	0.005	1.037
7	11.69	1960/12/8	苯乙醇	7.16±1.33	6.06±2.07	0.054	0.9
8	13.25	10482-56-1	L- α -松油醇	0.42±0.12	0.47±0.20	0.379	0.588
9	15.32	111-87-5	辛醇	0.31±0.09	0.43±0.25	0.052	0.838
10	19.82	40716-66-3	反式-橙花叔醇	36.81±8.39	30.53±9.07	0.029	1.039
11	22.01	4602-84-0	法尼醇	0.79±0.27	0.70±0.29	0.268	0.835
12	23.38	106-24-1	香叶醇	8.54±1.76	9.46±2.63	0.202	0.74
13	23.78	505-32-8	异植醇	7.67±2.34	6.41±2.93	0.140	0.911
14	24.62	150-86-7	植物醇	9.09±3.87	5.66±2.01	0.001	1.364
醇类 (14种)				81.80±11.46	72.71±17.71	0.061	1.018
15	5.44	590-86-3	异戊醛	0.21±0.06	0.38±0.19	0.001	1.331
16	5.46	66-25-1	己醛	0.18±0.09	0.37±0.20	0.000	1.337
17	7.66	111-71-7	庚醛	0.03±0.02	0.07±0.03	0.000	1.456
18	8.87	100-52-7	苯甲醛	1.18±0.37	1.42±0.55	0.100	0.977
19	12.36	67920-63-2	丁香醛	0.13±0.06	0.13±0.12	0.897	0.754
20	12.77	2548-87-0	反-2-辛烯醛	5.14±1.73	4.51±2.50	0.359	0.833
21	13.33	116-26-7	脱氢 β -环柠檬醛	0.43±0.11	0.43±0.23	0.923	0.754
22	13.4	112-31-2	癸醛	0.02±0.01	0.04±0.02	0.002	1.274
23	13.7	432-25-7	β -环柠檬醛	0.35±0.12	0.4±0.18	0.254	0.859
24	22.49	6728-26-3	(反)-2-己烯醛	0.07±0.01	0.08±0.04	0.699	0.692
25	25.06	124-19-6	壬醛	0.02±0.01	0.01±0.01	0.278	0.845
醛类 (11种)				7.76±1.77	7.84±3.12	0.921	0.776
26	10.62	98-86-2	苯乙酮	0.68±0.27	0.23±0.08	0.000	1.754
27	11.86	78-59-1	异佛尔酮	0.10±0.03	0.08±0.06	0.171	0.888
28	14.87	35044-68-9	β -大马酮	0.12±0.10	0.18±0.28	0.352	0.848
29	16.88	488-10-8	茉莉酮	2.19±0.97	1.00±0.43	0.000	1.532
30	17.4	127-41-3	α -紫罗兰酮	0.51±0.20	0.63±0.28	0.139	0.92
31	17.8	3796-70-1	香叶基丙酮	1.30±0.43	1.56±0.92	0.267	0.881
32	18.4	14901-07-6	β -紫罗兰酮	3.51±1.33	4.28±1.73	0.126	0.926

续表2

编号	保留时间/min	CAS	香气成分	含量/($\mu\text{g/g}$)		P值	VIP值
				云霄黄观音	武夷黄观音		
33	18.45	141-10-6	假性紫罗兰酮	0.10±0.03	0.13±0.07	0.202	0.884
34	24.62	502-69-2	植酮	9.13±3.90	5.73±2.05	0.001	1.355
酮类 (9种)				17.66±4.51	13.80±3.86	0.006	1.243
35	6.71	33467-73-1	顺-3-己烯醇甲酸酯	0.40±0.14	0.54±0.26	0.032	0.944
36	6.98	120-51-4	苯甲酸苯酯	0.41±0.72	0.72±1.90	0.499	0.786
37	8.11	106-70-7	己酸甲酯	0.14±0.07	0.21±0.33	0.334	0.871
38	8.77	7040-52-0	甲基磷酸环己酯	0.04±0.02	0.05±0.05	0.407	0.824
39	10.51	695-06-7	4-己内酯	3.33±0.84	1.72±0.66	0.000	1.738
40	12.55	39251-86-0	2-糠酸己酯	2.15±0.15	2.08±0.34	0.361	0.468
41	12.99	16491-36-4	顺-3-己烯基丁酯	0.37±0.22	0.52±0.37	0.138	0.832
42	13.11	2639-63-6	丁酸己酯	0.32±0.08	0.31±0.22	0.818	0.697
43	13.2	119-36-8	水杨酸甲酯	1.86±1.20	1.77±1.14	0.804	0.672
44	13.94	10032-15-2	异戊酸己酯	0.20±0.09	0.30±0.24	0.095	0.946
45	14.3	103-45-7	乙酸苯乙酯	0.40±0.19	0.33±0.22	0.302	0.766
46	14.31	140-26-1	异戊酸苯乙酯	0.40±0.19	0.33±0.22	0.307	0.763
47	15.99	103-37-7	丁酸苯甲酯	0.05±0.02	0.06±0.02	0.008	1.126
48	16.69	6378-65-0	己酸己酯	5.60±1.98	4.47±3.73	0.236	0.87
49	17.64	54411-16-4	(反)-2-己酸丁酯	0.04±0.01	0.04±0.05	0.733	0.782
50	17.68	103-52-6	丁酸苯乙酯	1.29±0.59	1.37±0.72	0.707	0.677
51	18.6	25524-95-2	茉莉内酯	27.93±7.14	14.39±3.92	0.000	1.787
52	19.31	17092-92-1	二氢猕猴桃内酯	1.00±0.67	1.17±0.67	0.438	0.8
53	20.09	1117-55-1	辛酸己酯	0.20±0.09	0.12±0.15	0.056	0.985
54	21.11	1211-29-6	茉莉酸甲酯	4.68±2.20	1.82±1.07	0.000	1.559
55	21.5	65405-77-8	水杨酸叶醇酯	0.22±0.07	0.19±0.09	0.221	0.767
56	22.08	124-10-7	十四烷酸甲酯	0.13±0.04	0.18±0.20	0.336	0.87
57	22.32	10032-02-7	己酸香叶酯	0.07±0.02	0.06±0.04	0.792	0.749
58	24.03	628-97-7	十六烷酸乙酯	0.02±0.01	0.04±0.02	0.012	0.954
酯类 (24种)				51.26±10.13	32.79±12.29	0.000	1.559
59	9.65	35194-36-6	4-己酸	0.95±0.19	0.81±0.30	0.078	0.787
60	14.48	112-05-0	壬酸	0.30±0.13	0.32±0.14	0.647	0.754
61	16.02	459-80-3	香叶酸	1.31±0.93	1.52±0.83	0.462	0.702
酸类 (3种)				2.56±1.03	2.64±1.01	0.796	0.704
62	9.39	123-35-3	月桂烯	1.28±0.36	1.94±0.66	0.000	1.29
63	9.9	80-56-8	α -蒎烯	1.00±0.45	0.97±0.72	0.899	0.764
64	10.15	5989-27-5	(+)-柠檬烯	0.44±0.19	0.62±0.63	0.236	0.856
65	13.9	99-85-4	γ -松油烯	0.21±0.11	0.21±0.13	0.949	0.754
66	15.51	36431-72-8	茶螺烷	0.75±0.19	0.86±0.39	0.859	0.551
67	17.54	546-28-1	β -雪松烯	0.31±0.10	0.31±0.09	0.294	0.868
68	17.92	87-44-5	β -石竹烯	10.90±2.80	11.82±2.63	0.267	0.878
69	17.92	28973-97-9	(顺)- β -金合欢烯	10.82±2.80	11.79±2.64	0.334	0.85
70	18.92	495-61-4	β -红没药烯	1.35±0.29	1.46±0.43	0.332	0.82
71	19.12	483-76-1	(+)- δ -卡丁烯	2.39±1.15	2.09±0.72	0.161	0.911
72	19.45	469-61-4	(-)- α -柏木烯	0.91±0.23	1.02±0.24	0.252	0.756
73	21.36	475-20-7	长叶烯	0.38±0.18	0.47±0.27	0.228	0.834
烯萜类 (12种)				30.76±5.71	33.57±6.37	0.150	0.926
74	13.3	112-40-3	十二烷	0.73±0.25	1.23±1.15	0.06	0.94
75	15.87	629-62-9	十五烷	0.22±0.12	0.14±0.10	0.043	0.921
76	16.98	629-59-4	十四烷	1.75±0.58	2.30±0.99	0.04	0.903
77	20.42	544-76-3	十六烷	0.96±0.38	1.19±0.59	0.153	0.73
78	25.44	638-36-8	2,6,10,14-四甲基-十六烷	0.10±0.04	0.11±0.04	0.355	0.661
烷烃类 (5种)				3.75±1.14	4.97±2.59	0.061	0.905
79	15.06	120-72-9	吡嗪	58.86±22.70	31.01±11.18	0.000	1.516
杂环类 (1种)				58.86±22.70	31.01±11.18	0.000	1.516
总量				254.40±43.07	199.34±38.68	0.000	1.443

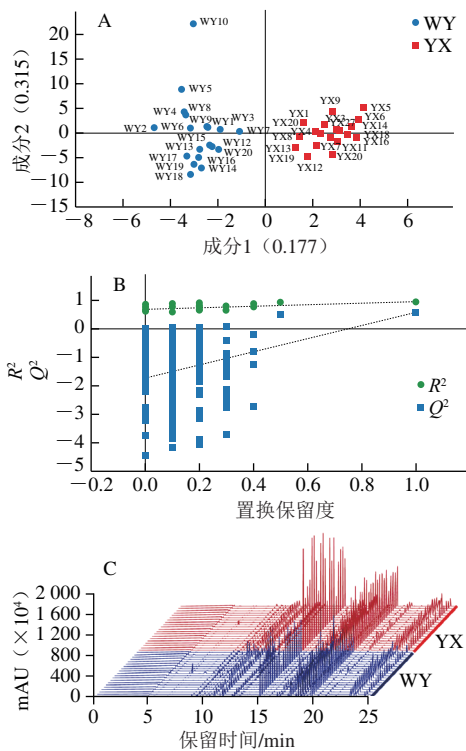


图2 不同产地黄观音乌龙茶的OPLS-DA (A)、模型交叉验证结果 (B) 及香气指纹图谱 (C)

Fig. 2 OPLS-DA (A), permutation test of permutation test of OPLS-DA model (B) and aroma fingerprints (C) of Huangguanyin oolong tea from different geographical origins

为研究不同产地黄观音茶树品种制成乌龙茶的香气特征，利用HS-SPME与GC-MS联用的方法对40种乌龙茶样品的香气化合物成分及相对含量进行分析鉴定。由表2可知，共检测到79个共有香气成分，其中醇类化合物14种、醛类化合物11种、酮类化合物9种、酯类化合物24种、酸类化合物3种、萜烯类化合物12种、烃类化合物5种和杂环类化合物1种。以79个共有香气组分作为因变量，不同产地作为自变量，通过OPLS-DA (图2A)，

可以实现2个产地的黄观音乌龙茶样品有效区分。本次分析中的自变量拟合指数 (R^2_x) 为0.782，因变量拟合指数 (R^2_y) 为0.927，模型预测指数 (Q^2) 为0.576， R^2 和 Q^2 超过0.5表示模型拟合结果可接受^[12]。经过200次置换检验，如图2B所示， Q^2 回归线与纵轴的相交点小于0，说明模型不存在过拟合，模型验证有效，认为该结果可用于茶叶香气的产地鉴别分析。

根据这些香气成分的峰保留时间、峰面积值等相关参数建立两地黄观音乌龙茶香气指纹图谱 (图2C)，不同产地样品香气指纹图谱之间具有明显差异。两地黄观音乌龙茶样品香气组分种类相似，但各类物质总含量有差异，含量最高的香气组分是醇类，其次是杂环类、酯类和萜烯类，其中云霄黄观音中的酯类和杂环类化合物含量显著高于武夷黄观音 ($P<0.05$)。

醇类通常具有花果香气特征^[12]，在乌龙茶做青过程中，内源性糖苷酶将芳香糖苷水解成醇^[13]。在云霄黄观音与武夷黄观音中共鉴定出14种醇类，分别占其总质量的32.45%和36.29%。香叶醇、苯乙醇、反式-橙花叔醇、芳樟醇及芳樟醇氧化物II作为乌龙茶的特征香气物质^[14]，分别占云霄黄观音与武夷黄观音醇类物质的74.34%和76.56%。前人研究结果认为反式-橙花叔醇是评定乌龙茶品质的关键香气成分之一^[13,15]，本实验结果中发现黄观音乌龙茶中具有较高含量的反式-橙花叔醇，分别占云霄黄观音与武夷黄观音香气总质量的10.42%和19.49%，且云霄黄观音中的反式-橙花叔醇含量显著高于武夷黄观音 ($P<0.05$)。芳樟醇氧化物II作为芳樟醇的氧化产物，其含量随着乌龙茶烘焙时间延长而增加^[16]，但在两地黄观音乌龙茶中不存在显著差异；吲哚是赋予乌龙茶花香特征的杂环类化合物^[17]，分别占云霄黄观音与武夷黄观音香气总质量的23.14%和15.56%；酯类化合物以乙酸乙酯、茉莉内酯和茉莉酸甲酯为主，其中具有奶香、果香特征的茉莉内酯和茉莉花香气的茉莉酸甲酯^[18]，在

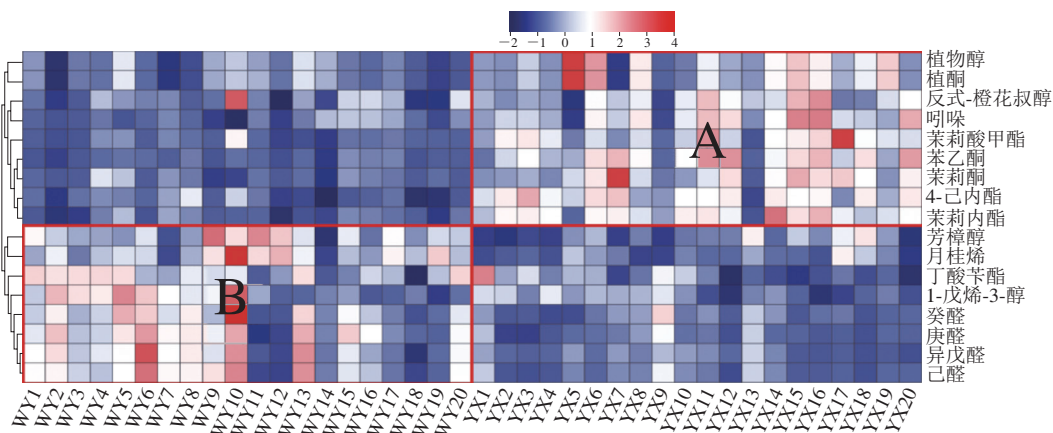


图3 不同产地黄观音乌龙茶的差异香气成分聚类热图

Fig. 3 Heatmap of differential aroma components between Huangguanyin oolong tea from different geographical origins

两地黄观音乌龙茶中存在显著差异 ($P < 0.05$)。萜烯类化合物以 β -石竹烯和(顺)- β -金合欢烯为主,但这2种香气物质在两地黄观音乌龙茶中不存在显著差异。

2.3 不同产地黄观音乌龙茶香气成分差异分析

为了进一步分析不同香气成分对区分两地黄观音乌龙茶的贡献率,根据 $P < 0.05$ 且VIP > 1的标准,筛选出17种两地黄观音乌龙茶的差异香气物质(图3),其中醇类4种、醛类4种、酮类3种、酯类4种、萜烯类1种和杂环类1种。区域A为云霄黄观音含量较突出的9种香气成分,包括反式-橙花叔醇、吲哚、茉莉酸甲酯、茉莉酸内酯等。区域B为武夷黄观音较高含量的8种香气成分,包括芳樟醇、月桂烯、癸醛、己醛等。

2.3.1 差异香气的OAV分析

香气成分含量的高低并不能作为判定茶叶香气特征依据,通常赋予茶叶香气特征的是具有较高OAV的香气成分^[19]。Guo Xiangyang等^[18]研究认为单个香气成分对乌龙茶整体香气的贡献取决于其浓度和气味阈值。前人研究通过计算OAV评价单个香气对茶叶整体香气的贡献度,OAV大于1时认为该香气组分对茶叶香气具有一定影响性,OAV大于10时认为该香气组分对茶叶整体香气贡献极大^[4]。根据文献报道的香气成分的阈值和属性描述,计算两地黄观音乌龙茶差异香气成分的OAV。结果表明(表3),共有14种香气成分可计算OAV,且OAV均大于1,认为这些差异香气物质可能对判别两地黄观音乌龙茶的香气特征具有重要作用。其中,两地黄观音乌龙茶中的芳樟醇、反式-橙花叔醇、癸醛、茉莉酮、茉莉酸甲酯和吲哚的OAV均高于100,认为这些香气物质可能是黄观音乌龙茶中的关键香气成分。

表3 不同产地黄观音乌龙茶的差异香气成分OAV
Table 3 OAVs of differential aroma components between Huangguanyin oolong tea from different geographical origins

CAS	香气成分	阈值 ^[18-20]	OAV		香气描述
			云霄黄观音	武夷黄观音	
616-25-1	1-戊烯-3-醇	400	2.04±0.55	2.69±1.00	花果香
78-70-6	芳樟醇	6	390.48±119.78	518.95±151.73	甜花香
40716-66-3	反式-橙花叔醇	250	147.26±33.58	122.14±36.26	花香、柑橘香
150-86-7	植物醇	640	14.20±6.04	8.84±3.15	花香、脂香
590-86-3	异戊醛	4	53.52±15.92	95.93±48.15	柑橘香、桃子香、脂香
66-25-1	己醛	4.5	40.37±19.26	81.69±44.49	青草香、苹果香
111-71-7	庚醛	10	3.30±1.53	6.78±3.19	清香
112-31-2	癸醛	0.1	224.63±106.35	396.05±206.81	柑橘香
98-86-2	苯乙酮	65	10.53±4.15	3.55±1.17	甜香, 樱桃香气, 香草
488-10-8	茉莉酮	7	312.90±138.39	142.53±61.17	茉莉花香
502-69-2	植酮	—	—	—	—
695-06-7	4-己内酯	—	—	—	—
103-37-7	丁酸辛酯	—	—	—	—
25524-95-2	茉莉内酯	300	93.10±23.81	47.96±13.07	奶香、果香、脂香
1211-29-6	茉莉酸甲酯	3	1560.28±731.94	607.64±358.02	茉莉花香
123-35-3	月桂烯	15	85.37±24.18	129.34±43.87	果香
120-72-9	吲哚	140	420.42±162.14	221.52±79.85	花香

注: —.无法计算OAV。

与云霄黄观音相比,武夷黄观音中OAV较为突出的芳樟醇(518.95)、癸醛(396.05)和月桂烯(129.34)等,多具有花果香特征。其中武夷黄观音中癸醛和月桂烯的OAV超过云霄黄观音的1.5倍以上。与武夷黄观音相比,云霄黄观音中OAV较为突出的香气成分多具花香特征,包括茉莉酸甲酯(1560.28)、吲哚(420.42)、茉莉酮(312.90)、反式-橙花叔醇(147.26)和茉莉内酯(93.10)等。其中,云霄黄观音中具有茉莉花香气的茉莉酸甲酯和茉莉酮的OAV超过武夷黄观音的2倍以上。由于乌龙茶工艺的特殊性,茶叶细胞完整度和细胞活性在加工过程中保持时间较长,能够充分地进行酶促反应。而在加工过程叶片受到了多种胁迫,尤其是做青过程的综合胁迫响应,即晾青的失水反应和摇青的持续性机械损伤^[21]。做青是乌龙茶关键的加工工序,是形成半发酵茶独特香味的关键^[14],前人研究结果表明做青过程中的低温胁迫与机械胁迫能够促进乌龙茶中吲哚^[22]、茉莉内酯^[23]、茉莉酸甲酯^[24]和反式-橙花叔醇^[25]含量的提高;茉莉酮是半发酵茶中具有类似茉莉花香气的脂肪酸衍生物^[26],在做青过程中的含量显著增加^[27];Zeng Lanting等^[28]研究也表明吲哚、反式-橙花叔醇和茉莉内酯含量累积与乌龙茶独特的加工工艺之间存在密切联系。

在做青过程中的机械损伤对叶片细胞造成了一定程度破坏,影响了细胞内酶促反应的进程从而对乌龙茶特征香气物质的产生。Gui Jiadong等^[29]研究发现茉莉内酯和吲哚在发酵前期的含量显著提高,但随着持续发酵其含量缓慢减少,可能与叶片细胞破损程度相关^[17,26],乌龙茶的做青强度与发酵程度密切相关,酸性强度随发酵程度逐步增强,而赋予高品质茶叶兰花香气的茉莉酸甲酯易在酸或高温条件下转化^[30-31];王赞等^[32]研究表明,芳樟醇在重做青乌龙茶中含量较高。茉莉内酯、吲哚、茉莉酸甲酯和芳樟醇在两地黄观音乌龙茶含量中的差异可能与其发酵程度密切相关。云霄黄观音结合闽南与闽北乌龙制作工艺,具有“重摇、摇次少、轻发酵”的特点,而武夷黄观音则具有闽北乌龙茶的“轻摇、摇次多、重发酵”特点,认为两地黄观音乌龙在这些香气成分含量上的差异可能与不同做青工艺有关。

2.3.2 基于差异香气成分的产地判别分析

为了获得更准确和直观的分类结果,依据筛选出的17个具有组间差异的香气成分,对40个不同产地黄观音乌龙茶香气数据进行产地判别分析。

使用PCA对差异香气数据进行降维处理,得到前2个PC的云霄黄观音乌龙茶得分散点图(图4A)。如图4B₁所示,PC累计比值越接近1,表示PCA模型的可靠性越强;如图4B₂所示,各PC的可解释变异为PC1 > PC2 > PC3 > PC4 > PC5,其中PC1和PC2的方差贡献率分别为

47.41%、16.86%，累计方差贡献率达到64.27%，认为选取PC1、PC2分析样本具有较好的可靠性。SVM模型依据前2个PC，并将样本随机分为70%训练集和30%测试集，SVM模型判别率达到83.33%（图4C），认为这17种差异香气物质能够用于判定来自云霄与武夷山的黄观音乌龙茶。芳樟醇、反式-橙花叔醇、茉莉内酯、茉莉酸甲酯和吲哚作为乌龙茶的重要香气成分^[9]，在两地黄观音乌龙茶之间的含量差异达到显著水平。对这几种重要差异香气成分进行PC降维处理，PC1和PC2的方差贡献率分别为62.17%、19.85%，累计方差贡献率达到82.02%。SVM模型依据前两个PC，并将样本随机分为70%训练集和30%测试集，结果表明SVM模型判别率为100%（图4D）。认为芳樟醇、反式-橙花叔醇、茉莉内酯、茉莉酸甲酯和吲哚的含量与SVM模型相结合，是一种有效、准确鉴别云霄与武夷山黄观音乌龙茶的方法。

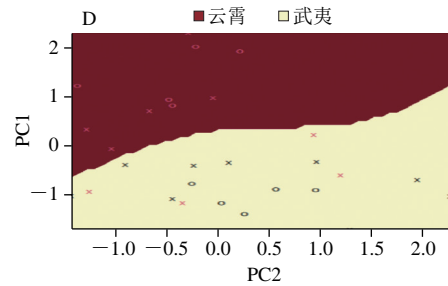
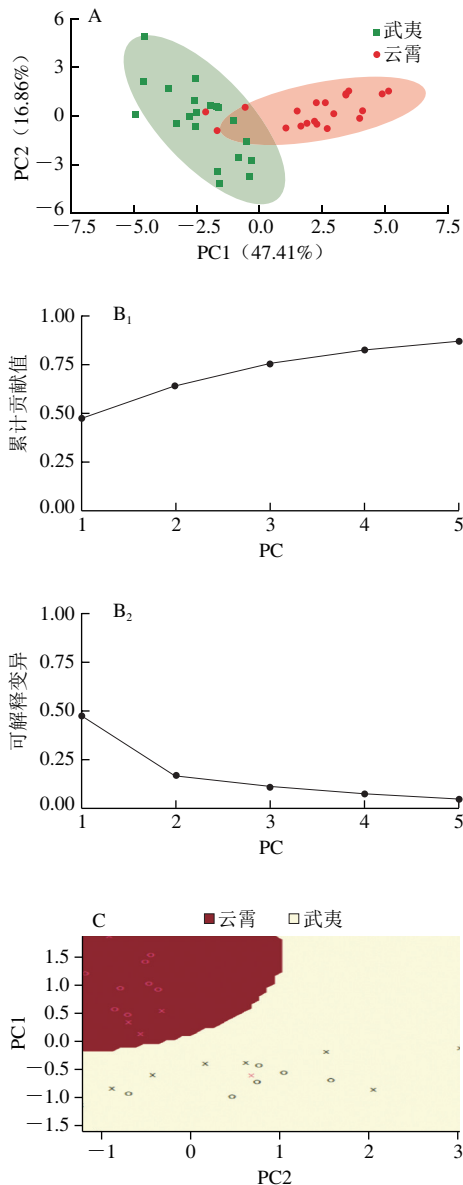


图4 不同产地黄观音乌龙茶差异香气成分的PCA (A)、可解释变异图 (B)、SVM模型 (C) 及5种香气成分SVM模型 (D)

Fig. 4 Principal component analysis (PCA) plot (A), cumulative contribution and explained variation of first five principal components (B), SVM model based on differential aroma components (C) and SVM model based on five important aroma components (D) in Huangguanyin oolong tea from different geographical origins

3 结论

采用电子鼻结合HS-SPME-GC-MS技术，对不同产地的黄观音乌龙茶的香气成分进行比较分析，结果表明不同产地黄观音乌龙茶的香气成分在种类上相似，而在含量上差异显著，且具有明显的产地特征。不同产地黄观音乌龙茶中共检测出79个共有香气成分，基于P值与VIP值，进一步筛选到与乌龙茶香气品质相关的茉莉酸甲酯、吲哚、茉莉酮、反式-橙花叔醇和茉莉内酯等17个香气物质在两地黄观音样品中的含量差异达到显著水平。通过对两地黄观音乌龙茶的差异香气物质进行OAV对比分析，结果表明云霄黄观音中OAV较高的茉莉酸甲酯、吲哚、茉莉酮、反式-橙花叔醇和茉莉内酯等香气成分多具花香特征，而武夷黄观音中OAV较高的芳樟醇、癸醛、月桂烯、异戊醛和己醛等香气成分多具有花果香气特征；基于差异香气物质对两地黄观音乌龙茶进行PCA，前2个PC的累计方差贡献率达到64.27%，依据前2个PC构建的SVM模型进行黄观音乌龙茶产地判别率达到83.33%，对样品的5个重要香气成分（芳樟醇、反式-橙花叔醇、茉莉内酯、茉莉酸甲酯和吲哚）构建的SVM模型判别率为100%。

本实验对影响两地黄观音乌龙茶品质的香气成分进行分析比较，为辨别云霄与武夷黄观音乌龙茶提供理论参考。由于不同产地黄观音乌龙茶的香气品质可能受到其他因素的影响，还需进一步控制变量并增加实验样本，同时本课题组在后续的研究中，将进一步结合GC-嗅闻、矿物质元素和气相色谱离子迁移谱等技术，为云霄黄观音和武夷黄观音乌龙茶的品质评定提供客观依据。

参考文献:

[1] 叶乃兴. 茶学概论[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2020: 129-131.

- [2] 嵇伟彬, 刘盼盼, 许勇泉, 等. 几种乌龙茶香气成分比较研究[J]. 茶叶科学, 2016, 36(5): 523-530. DOI:10.13305/j.cnki.jts.2016.05.011.
- [3] 郭吉春, 叶乃兴, 杨如兴, 等. 茶树杂交种金观音、黄观音的选育与应用[J]. 福建茶叶, 2008(1): 11-14.
- [4] 邵淑贤, 王淑燕, 王丽, 等. 基于ATD-GC-MS技术的不同品种白牡丹茶香气成分分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(1): 261-268. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021030180.
- [5] 王淑燕, 赵峰, 饶耿慧, 等. 基于电子鼻和ATD-GC-MS技术分析茉莉花茶香气成分的产地差异[J]. 食品工业科技, 2021, 42(15): 234-239. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020080064.
- [6] LIN J, ZHANG P, PAN Z Q, et al. Discrimination of oolong tea (*Camellia sinensis*) varieties based on feature extraction and selection from aromatic profiles analysed by HS-SPME-GC-MS[J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 259265. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.02.128.
- [7] LIU P P, ZHENG P C, GONG Z M, et al. Comparing characteristic aroma components of bead-shaped green teas from different regions using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry/olfactometry combined with chemometrics[J]. European Food Research and Technology, 2020, 246(9): 1703-1714. DOI:10.1007/s00217-020-03514-y.
- [8] 赵阳, 龚加顺, 王秋萍. 古树普洱茶生茶贮藏过程中香气成分的变化[J]. 食品科学, 2022, 43(4): 241-248. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210217-187.
- [9] 吕世懂, 吴远双, 姜玉芳, 等. 不同产区乌龙茶香气特征及差异分析[J]. 食品科学, 2014, 35(2): 146-153. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20130321-221.
- [10] 周志, 薛俊鹏, 卓座品, 等. 一方水土养一方茶: 产地影响武夷岩茶品质的代谢组基础[J]. 中国科学: 生命科学, 2019, 49(8): 1013-1023.
- [11] 颜廷宇, 林洁鑫, 朱建新, 等. 电子鼻和GC-MS结合化学计量学应用于高香红茶与传统工夫红茶香气特征的研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(18): 252-261. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021120202.
- [12] YUN J, CUI C J, ZHANG S H, et al. Use of headspace GC/MS combined with chemometric analysis to identify the geographic origins of black tea[J]. Food Chemistry, 2021, 360: 130033. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.130033.
- [13] MA C H, QU Y Q, ZHANG Y X, et al. Determination of nerolidol in teas using headspace solid phase microextraction-gas chromatography[J]. Food Chemistry, 2014, 152: 285-290. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.11.010.
- [14] HU C J, LI D, MA Y X, et al. Formation mechanism of the oolong tea characteristic aroma during bruising and withering treatment[J]. Food chemistry, 2018, 269: 202-211. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.07.016.
- [15] AHEIBANI E, DUNCAN S E, KUHN D D, et al. Changes in flavor volatile composition of oolong tea after panning during tea processing[J]. Food Science & Nutrition, 2016, 4(3): 456-468. DOI:10.1002/fsn3.307.
- [16] 肖凌, 毛世红, 童华荣. 3种香型凤凰单丛茶挥发性成分分析[J]. 食品科学, 2018, 39(20): 233-239. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201820034.
- [17] ZENG L T, ZHOU Y, GUI J D, et al. Formation of volatile tea constituent indole during the oolong tea manufacturing process[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(24): 5011-5019. DOI:10.1021/acs.jafc.6b01742.
- [18] GUO X Y, SCHWAB W, HO C T, et al. Characterization of the aroma profiles of oolong tea made from three tea cultivars by both GC-MS and GC-IMS[J]. Food Chemistry, 2022, 376: 131933. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131933.
- [19] WANG M Q, MA W J, SHI J, et al. Characterization of the key aroma compounds in Longjing tea using stir bar sorptive extraction (SBSE) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), gas chromatography-olfactometry (GC-O), odor activity value (OAV), and aroma recombination[J]. Food Research International, 2020, 130: 108908. DOI:10.1016/j.foodres.2019.108908.
- [20] MA L J, GAO M M, ZHANG L Q, et al. Characterization of the key aroma-active compounds in high-grade Dianhong tea using GC-MS and GC-O combined with sensory-directed flavor analysis[J]. Food Chemistry, 2022, 378: 132058. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.132058.
- [21] 闫振, 王登良. 茶叶香气物质响应胁迫机制与功能研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(15): 337-345. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200910-117.
- [22] ZHOU Y, ZENG L T, HOU X L, et al. Low temperature synergistically promotes wounding-induced indole accumulation by inducer of CBF expression-mediated alterations of jasmonic acid signaling in *Camellia sinensis*[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(6): 2172-2185. DOI:10.1093/jxb/erz570.
- [23] ZENG L T, ZHOU Y, FU X M, et al. Biosynthesis of jasmine lactone in tea (*Camellia sinensis*) leaves and its formation in response to multiple stresses[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(15): 3899-3909. DOI:10.1021/acs.jafc.8b00515.
- [24] FENG Y Y, WANG J M, ZHAO Y F, et al. Biosynthesis of orchid-like volatile methyl jasmonate in tea (*Camellia sinensis*) leaves in response to multiple stresses during the shaking process of oolong tea[J]. Food Science & Technology, 2021, 143: 111184. DOI:10.1016/j.lwt.2021.111184.
- [25] ZHOU Y, ZENG L T, LIU X Y, et al. Formation of (*E*)-nerolidol in tea (*Camellia sinensis*) leaves exposed to multiple stresses during tea manufacturing[J]. Food Chemistry, 2017, 231: 78-86. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.03.122.
- [26] SHI J F, HUANG W J, CHEN Z, et al. Characterization of volatile components of eight FengHuang Dancong manufactured teas and fresh leaves by HS-SPME coupled with GC-MS[J]. International Journal of Nutrition and Food Sciences, 2018, 7(5): 160. DOI:10.11648/j.ijnfs.20180705.12.
- [27] MA C Y, LI J X, CHEN W, et al. Study of the aroma formation and transformation during the manufacturing process of oolong tea by solid-phase micro-extraction and gas chromatography-mass spectrometry combined with chemometrics[J]. Food Research International, 2018, 108: 413-422. DOI:10.1016/j.foodres.2018.03.052.
- [28] ZENG L T, ZHOU Y, FU X M, et al. Does oolong tea (*Camellia sinensis*) made from a combination of leaf and stem smell more aromatic than leaf-only tea? Contribution of the stem to oolong tea aroma[J]. Food Chemistry, 2017, 237: 488-498. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.05.137.
- [29] GUI J D, FU X M, ZHOU Y, et al. Does enzymatic hydrolysis of glycosidically bound volatile compounds really contribute to the formation of volatile compounds during the oolong tea manufacturing process?[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(31): 6905-6914. DOI:10.1021/acs.jafc.5b02741.
- [30] FENG Z H, LI M, LI Y F, et al. Characterization of the orchid-like aroma contributors in selected premium tea leaves[J]. Food Research International, 2020, 129(C): 108841. DOI:10.1016/j.foodres.2019.108841.
- [31] ACREE T E, NISHIDA R, FUKAMI H. Odor thresholds of the stereoisomers of methyl jasmonate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1985, 33(3): 425-427.
- [32] 王赞, 郭雅玲. 做青工艺对乌龙茶特征香气成分影响的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(5): 1603-1609. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2017.05.014.