

基于 HS-SPME-GC-O/MS 方法分析新、陈大红袍中的关键差异性香气活性成分

张悦¹, Kang Suyoung¹, 吕海鹏¹, 郭丽¹, 戴伟东¹, 朱荫^{2*}, 林智^{1*}

(¹ 中国农业科学院茶叶研究所 杭州 310008

² 浙江省茶叶加工工程重点实验室 杭州 310008)

摘要 香气是评价茶叶品质的重要因素之一。为系统解析新、陈大红袍中香气成分差异,从而为大红袍的科学储藏提供参考依据,本研究采用顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用法(HS-SPME-GC-MS)和气相色谱-嗅觉测量法(GC-O)从新大红袍和陈年大红袍中共鉴定出 185 种香气成分和 45 种香气活性化合物。偏小二乘法判别分析和非参数检验结果表明:31 种关键香气化合物在新、陈两组大红袍样品之间存在统计学差异($P < 0.05$)。通过化合物峰面积与香气强度值对新、陈大红袍中的关键差异性香气化合物和香气活性化合物进行对比分析,结果表明:2-乙酰基呋喃、3,5-二甲基-2-乙基-吡嗪、芳樟醇、苯乙醇、乙酸苯乙酯、吲哚和己酸己酯等 7 种化合物的峰面积与香气强度值呈现一致的变化趋势,说明它们对于区分新、陈年大红袍香气有重要贡献。因此,这些化合物是区分新、陈大红袍的关键差异性香气活性成分,具有作为判别陈年武夷岩茶的化学标志物的潜在应用前景。本研究结果为大红袍香气的科学评价和“新陈茶”的判别提供了技术参考。

关键词 大红袍; 香气活性成分; 顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用法; 气相色谱-嗅觉测量技术; 多元统计分析

文章编号 1009-7848(2023)06-0347-20 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.06.035

大红袍产于福建武夷山,类属闽北乌龙茶。因其香气馥郁,滋味醇厚回甘等优异品质特征,大红袍长期以来跻身武夷四大名丛之首,属武夷岩茶之珍品^[1]。近年来,由于储藏一定年份的茶叶往往具有独特的风味品质及显著的保健功效,因此市场上掀起一股“陈茶热”,比如陈年普洱茶^[2-3]、陈年铁观音^[4]和老白茶^[5]等,纷纷成为消费者收藏和品饮的对象,而陈年武夷岩茶也逐渐进入人们的视野^[6],引起消费者及科研工作者的关注。陈年大红袍在外观上与新大红袍无明显差异。除专业性极强的感官审评技术外,目前尚无科学量化的手段来判别新、陈大红袍。这一短板给不法商贩提供了可乘之机。鉴于茶叶内含的挥发性化合物会因储藏过程中环境、时间等因素的影响而发生显著变化^[7],因此查明其关键差异性香气成分可为新、陈

大红袍的科学判别提供新的理论依据。目前,对大红袍的研究不仅包括生物活性^[8-9]、组培繁育^[10]和品种选育^[11]等方面,还更多聚焦于加工工艺对大红袍香气成分的影响。柴斐等^[12]发现烘干大红袍中吡嗪类化合物和芳樟醇远大于冰冻大红袍中的含量,而 α -法尼烯、香叶醇和橙花叔醇等含量远低于冰冻大红袍,两者都有较高含量的苯乙醛。王芳等^[13]认为橙花叔醇、 α -法尼烯、吲哚、苯乙腈、苯乙醇、己酸己酯、己酸-顺-3-己烯酯、己酸-反-2-己烯酯、苯甲酸己酯、苯甲酸-3-己烯-1-酯和苯甲酸反-2-己烯酯等成分在做青和杀青工艺中大量转化生成,是赋予大红袍浓郁花果香的主要香气成分,也是与大红袍品种特征密切关联的香气成分。另外,有人研究了不同焙火温度对大红袍香气的影响^[11,14],结果表明:在较高的焙火温度下,酯类和杂环化合物含量相对较高,特别是杂环化合物中具有焦香与蜜香气味特征的吡嗪类、呋喃类物质均随温度的升高呈现明显增加的趋势。

虽然茶叶中含有成百上千种挥发性化合物,但是由于气味阈值及香气特征迥异,仅有少数低阈值且高含量的化合物可被人体嗅觉系统所感知,且对茶叶香气品质的形成起到直接的促进作用。

收稿日期: 2022-06-29

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(Y2023QC27); 国家自然科学基金面上项目(32172631); 中国农业科学院创新工程项目(CAAS-ASTIP-2014-TRICAAS)

第一作者: 张悦,女,硕士,助理研究员

通信作者: 林智 E-mail: linzhi@caas.cn

朱荫 E-mail: zhuy_scu@tricaas.com

用,这类化合物称之为“香气活性化合物”^[15]。香气活性化合物的鉴定方法主要包括气相色谱-嗅觉测量技术(GC-O)、香气活性值法(Odor Activity Value, OAV)、香气化合物重组以及香气化合物添加/缺失试验等^[16]。GC-O技术可将GC的分离能力与人类鼻子的灵敏性结合,通过专业审评员嗅闻,确定各化合物对香气的实际贡献,通常与质谱检测技术联用来确定关键活性香气成分的化学结构、香气特征及气味强度等。目前,不同类型绿茶^[17-18]、红茶^[19]、普洱茶^[20]以及凤凰单丛^[21]等多种茶叶中的关键香气活性成分已通过GC-O手段被系统查明。相比之下,大红袍中的香气活性成分却鲜见报道,而更深层次的新、陈大红袍中的关键差异性香气活性成分更是尚未明晰,限制了人们对大红袍香气物质基础的科学认知。本研究采用顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用法(HS-SPME-GC-MS)分析新、陈年大红袍样品的整体香气组成,采用GC-O方法分析鉴定它们的香气活性成分,结合多元统计分析手段明确其关键差异性香气活性成分,以期丰富茶叶香气化学基础理论体系,并为新、陈大红袍的鉴别及储藏年份判别等质量控制方面提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

茶叶样品:选用由大红袍茶树品种制备的试验当年(2018年)新大红袍5个。加工工艺流程为:鲜叶→萎凋→做青→杀青→揉捻→烘干(初烘,摊晾,复烘)→毛茶→精制。样品编号为N-DHP1~N-DHP5;2013年陈年大红袍3个,来源于福建武夷山市永生茶业有限公司,茶树品种与加工工艺与新大红袍一致,样品贮存标准符合GB/T 30375-2013,编号为A-DHP1~A-DHP3。上述茶样均用研磨机磨粉后过40目筛。GC-O样品为茶叶混合样,新大红袍混合样为5个大红袍样品磨粉后等比例混合,陈年大红袍混合样为3个陈年大红袍样品磨粉后等比例混合。所有样品保存于4℃冰箱备用。

试剂、耗材:正构烷烃C8-C40混合标准品,北京百灵威科技有限公司;纯净水,杭州娃哈哈集团。HS-SPME萃取头型号为65 μm PDMS/DVB

涂层纤维萃取头,美国Supelco公司;20 mL顶空萃取瓶,美国Agilent公司。

1.2 仪器设备

GC-MS分析仪(Agilent 7890B-5977B),美国Agilent公司;自动化HS-SPME装置装载于GC-MS仪配备的自动前处理平台MPS-2,德国Gerstel公司;GC-O/MS分析通过MPS-2平台上连接的嗅觉检测端口ODP-3(德国Gerstel公司)完成;研磨机(Tube Mill Control),德国IKA公司;分析电子天平(SQP型),赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 GC-MS样品前处理 参考Kang等^[19]的方法,采用HS-SPME方法对茶叶中香气成分进行萃取。准确称取茶叶样品1.00 g至20 mL顶空萃取瓶中,加入6.0 mL沸水冲泡后立即置于MPS-2前处理平台的恒温金属孵化器中,设置平衡时间为3.0 min,孵化温度为60℃,萃取时间为60 min,解析时间为5.0 min。每个样品重复3次。

1.3.2 GC-MS分析 GC条件:色谱柱为HP-5MS毛细管柱(30 m×250 μm×0.25 μm,美国Agilent公司);进样口和传输线温度均为250℃;载气为高纯度氦气,纯度≥99.99%,柱流量为1.6 mL/min,不分流进样,升温程序:初始柱温50℃,保持3 min,以4℃/min升温至265℃,保持5 min,总分析时间为60.75 min。

MS条件:EI电离能量:-70 eV;质量扫描范围:33~600 u;离子源温度:220℃。

GC-MS定性:采用NIST 2014谱库检索结合保留指数(Retention Index, RI)验证,对所分离的香气化合物进行定性,保留RI文献值和计算值差值小于20的化合物^[22]。

香气化合物含量计算:采用峰面积归一法计算各化合物的相对百分含量。计算公式为:含量(%)=(化合物峰面积/可定性的所有化合物峰面积总和)×100%。

1.3.3 GC-O/MS分析 茶叶香气萃取物经GC分离后,1:1分流分别进入嗅闻端及质谱端,GC及MS部分的参数条件与1.3.2节中GC-MS条件相同;嗅闻端的嗅闻口及传输线的温度分别设为200℃及250℃;高纯氮气(纯度≥99.99%)作为

GC-O 补偿气,流速设置为 50 mL/min。

GC-O 嗅闻试验由 6 名经验丰富的审评员完成,其中 4 名女性、2 名男性,年龄在 24~40 岁之间。所有审评员都经过 30 h 以上的闻香培训,对 GC-O 嗅闻试验有丰富的实践经验。6 名审评员分别对新大红袍和陈年大红袍混合样进行嗅闻,并记录气味描述和香气强度 (Aroma Intensity, AI)。GC-O 嗅觉检测端口 ODP-3 连接带有 1、2、3、4 不同数字按键标记的手柄,审评员根据香气强度强弱选择手柄上对应的数字按键。“1”表示香气强度“弱”,“2”表示香气强度“中等”,“3”表示香气强度“强”,“4”表示香气强度“非常强”。随后对 6 名审评员的嗅闻结果进行汇总和综合分析,筛选出同一时间区间内至少有 3 名审评员可以闻到且气味特征描述相似的气味,再通过 NIST 谱库检索、保留指数以及文献和网站气味描述验证等方式对嗅闻到的化合物进行定性。

1.4 数据分析

采用 Excel 2013(美国微软公司)进行数据初步处理,计算平均含量(Mean)和标准偏差(Standard Deviation, SD) 以及绘制饼图和柱状图等。采用 SPSS Statistics 20.0(美国 IBM 公司)、SIMCA

14.1 (瑞典 Umetrics 公司) 及 MultiExperiment Viewer 4.8.1(美国 Oracle 公司)对获得的数据进行多元统计分析。

2 结果与分析

2.1 新大红袍和陈年大红袍中香气成分的 GC-MS 分析

采用 GC-MS 技术对新大红袍和陈年大红袍中的香气成分进行鉴定。图 1a 和 1b 分别为新大红袍和陈年大红袍香气成分的总离子流图。经 NIST 2014 质谱库自动检索后,初步确定新大红袍和陈年大红袍中 336 个色谱峰的化学结构。然后通过对比保留指数(RI)文献值和计算值,保留二者差值小于 20 的化合物,从而实现大红袍和陈年大红袍香气成分的精确定性分析。最终在两种大红袍中共鉴定出 185 种香气化合物,包括醛类(25 种),含氮化合物(19 种),芳香烃类(12 种),酯类(32 种),酮类(26 种),烯炔类(29 种),醇类(14 种),烷烃类(12 种),氧杂环化合物(8 种),内酯类(4 种),酚类(2 种),含硫化合物(1 种)以及有机酸类(1 种)等。

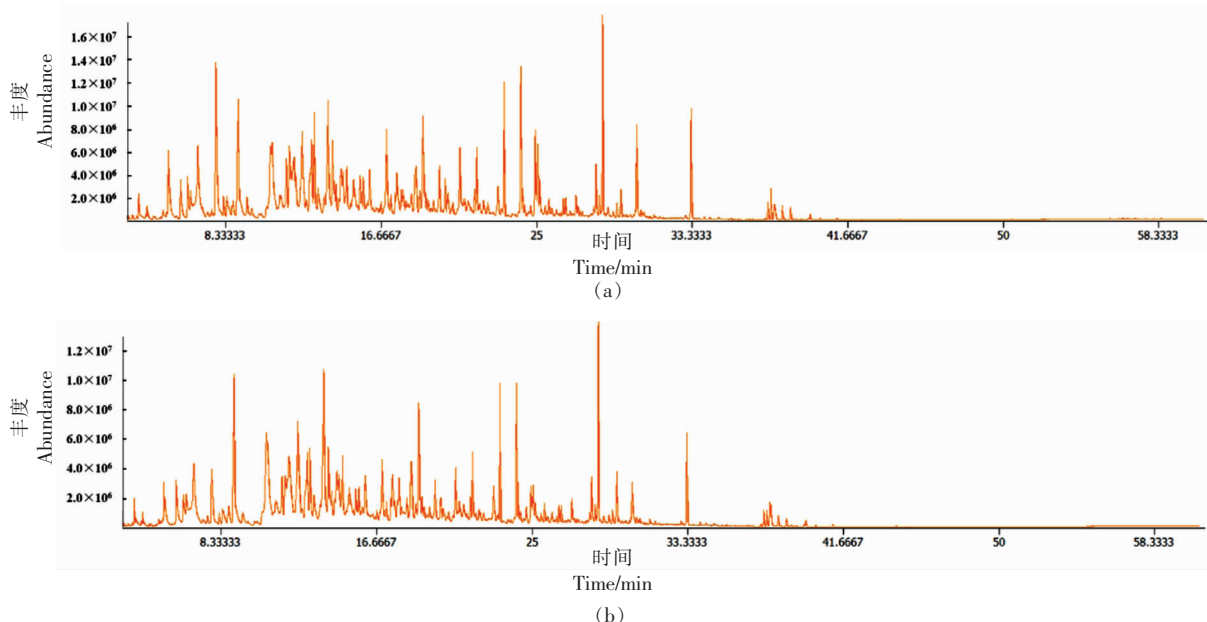


图 1 新大红袍(a)和陈年大红袍(b)香气成分的总离子流图

Fig.1 The total ion chromatography of new and aged Dahongpao oolong teas

各类别化合物相对含量如图 2 所示。在新大红袍(a)和陈年大红袍(b)样品中,均以醛类化合

物的相对含量最高,分别占有所有香气化合物的 30.44%和 33.27%。在新大红袍样品中,含氮化合

物相对含量排名第2位, 占有香气化合物的16.29%, 芳香烃类化合物相对含量为14.01%, 排名第3位; 而在陈年大红袍样品, 以芳香烃类化合物排名第2位, 占有香气成分的15.57%, 含氮化合物相对含量排名第3位(13.23%); 酯类和酮类化合物含量也相对较高, 均占有香气化合物的10%以上。其次是烯烃类化合物, 它们在新大红

袍和陈年大红袍样品中相对含量分别为5.16%和4.48%。以上6类化合物相对含量总和占有香气成分的90%以上。其余7类化合物相对含量总和不足所有香气成分的10%, 各类化合物含量在0.02%~4.24%之间, 它们按照醇类>烷烃类>氧杂环化合物>内酯类>酚类>含硫化合物>有机酸类的规律分布于新大红袍和陈年大红袍样品中。

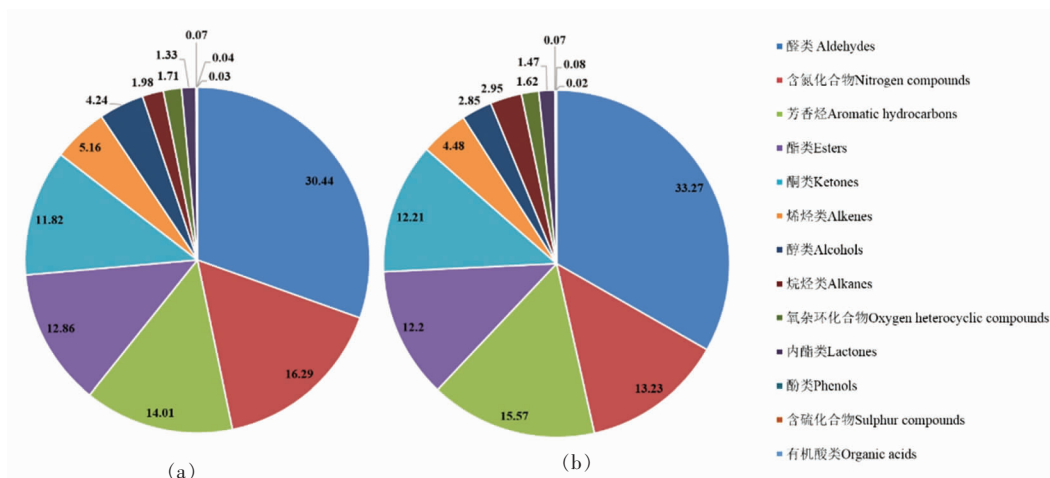


图2 新大红袍(a)和陈年大红袍(b)中各类香气化合物的相对含量分布

Fig.2 The relative content distribution of each category of aroma compounds in new and aged Dahongpao oolong teas

2.2 新大红袍和陈年大红袍香气成分含量差异比较

新大红袍和陈年大红袍中鉴定出的香气化合物及其相对含量如表1所示。在醛类化合物中, 糠醛相对含量最高, 在新大红袍和陈年大红袍中含量高达8.91%和11.71%之多。反,反-2,4-庚二烯醛(7.46%, 7.14%;前为新大红袍含量,后为陈年大红袍含量,下同)、5-甲基糠醛(4.68%, 5.46%)、苯甲醛(4.34%, 3.89%)及己醛(1.48%, 1.42%)含量也相对较高, 其余化合物含量均在1.00%以下。在含氮化合物中, 茶吡咯含量排名第一, 在大红袍和陈年大红袍中分别占有香气成分含量的5.38%和6.00%, 苯乙腈(4.54%, 2.38%)含量次之, 咖啡因(1.40%, 0.95%)含量居第3位, 其余化合物的含量在两种大红袍中均低于1%。在芳香烃类化合物中, 1,1,6-三甲基-1,2-二氢萘(4.27%, 5.24%)含量最高, 间二甲苯(3.06%, 2.44%)和对伞花烃(2.50%, 3.15%)含量紧随其后, 1,3-二叔丁基苯(1.42%, 1.80%)和甲苯(1.29%, 1.03%)

在新大红袍和陈年大红袍中相对含量大于1%。

水杨酸甲酯(3.57%, 4.72%;酯类)、苯丙酮(1.29%, 2.88%;酮类)、柠檬烯(1.28%, 1.22%;烯炔类)、苯乙醇(1.32%, 0.77%;醇类)、十二烷(0.50%, 0.81%;烷烃类)、2-乙酰基咪喃(1.01%, 0.86%;氧杂环化合物)、二氢猕猴桃内酯(1.03%, 1.20%;内酯类)是相应类别化合物中含量最高的挥发性物质。此外, 酚类、含硫化合物和有机酸类的化合物数目少, 含量也普遍较低, 所有化合物相对含量均在0.08%以下。

2.3 新大红袍和陈年大红袍关键差异性香气成分的鉴定

主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)是多变量数据分析的一种常用的重要方法^[24], 主要通过降维手段, 将大量的多维数据转换为可以直观观察的样品分布散点图(主成分得分图), 从而可以直观看出各个观测变量或各组观测变量的靠近程度。它是一种非监督模式多变量统计分析方法^[25]。偏最小二乘法判别分析(Partial

表1 新大红袍和陈年大红袍中的香气化合物相对含量

Table 1 The relative contents of aroma compounds of the new and aged Dahongpao oolong teas

序号	化合物名称	CAS	RI		新大红袍		陈年大红袍	
			参考值 Ref. ^a	计算值 Cal. ^b	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$
	醛类							
1	糠醛	98-01-1	833	830	5.28~11.67	8.91 ± 2.35	10.06~12.68	11.71 ± 1.44
2	反,反-2,4-庚二烯醛 ^{*c}	4313-03-5	1012	1011	5.75~8.92	7.46 ± 1.43	6.79~7.46	7.14 ± 0.34
3	5-甲基糠醛	620-02-0	969	963	4.29~5.36	4.68 ± 0.50	5.12~5.69	5.46 ± 0.30
4	苯甲醛 ^{**}	100-52-7	964	961	3.94~5.01	4.34 ± 0.45	3.18~5.15	3.89 ± 1.09
5	己醛	66-25-1	802	803	0.76~2.17	1.48 ± 0.54	1.24~1.70	1.42 ± 0.24
6	β -环柠檬醛 ^{***}	432-25-7	1222	1220	0.64~0.75	0.72 ± 0.04	0.62~0.64	0.63 ± 0.01
7	反-2-辛烯醛	2548-87-0	1060	1058	0.45~0.83	0.61 ± 0.14	0.77~0.84	0.81 ± 0.03
8	庚醛	111-71-7	902	901	0.25~0.45	0.37 ± 0.08	0.39~0.53	0.45 ± 0.08
9	壬醛 ^{***}	124-19-6	1102	1103	0.21~0.37	0.29 ± 0.07	0.16~0.21	0.18 ± 0.03
10	苯乙醛	122-78-1	1045	1044	0.18~0.35	0.29 ± 0.07	0.17~0.24	0.20 ± 0.04
11	顺-2-庚烯醛	57266-86-1	958	957	0.14~0.32	0.22 ± 0.08	0.21~0.24	0.22 ± 0.02
12	反,反-2,4-癸二烯醛	25152-84-5	1317	1314	0.14~0.21	0.17 ± 0.03	0.20~0.24	0.22 ± 0.02
13	反-2-壬醛	18829-56-6	1162	1159	0.12~0.17	0.14 ± 0.02	0.19~0.20	0.20 ± 0.00
14	反-2-癸烯醛	3913-81-3	1259	1259	0.09~0.21	0.13 ± 0.05	0.17~0.19	0.18 ± 0.01
15	顺-4-庚烯醛	6728-31-0	903	901	0.09~0.14	0.12 ± 0.03	0.11~0.14	0.13 ± 0.02
16	反-柠檬醛	141-27-5	1273	1269	0.10~0.14	0.11 ± 0.02	0.08~0.10	0.09 ± 0.01
17	藏花醛	116-26-7	1201	1199	0.09~0.12	0.10 ± 0.01	0.10~0.14	0.11 ± 0.02
18	反-2-己烯醛	6728-26-3	854	859	0.08~0.13	0.10 ± 0.02	0.05~0.09	0.07 ± 0.02
19	癸醛	112-31-2	1206	1203	0.04~0.08	0.06 ± 0.02	0.05~0.05	0.05 ± 0.00
20	α -环柠檬醛	432-24-6	1123	1117	0.03~0.06	0.04 ± 0.01	0.04~0.05	0.04 ± 0.01
21	2-苯基巴豆醛	4411-89-6	1281	1278	0.02~0.05	0.03 ± 0.01	0.00~0.01	0.00 ± 0.01
22	十二醛	112-54-9	1411	1405	0.02~0.03	0.02 ± 0.01	0.03~0.04	0.04 ± 0.01
23	辛醛	124-13-0	1005	1004	0.01~0.03	0.02 ± 0.01	0.02~0.02	0.02 ± 0.00
24	反,顺-2,6-壬二烯醛	557-48-2	1155	1153	0.01~0.02	0.01 ± 0.00	0.01~0.01	0.01 ± 0.00
25	2-丁基-2-辛烯醛	13019-16-4	1378	1372	0.01~0.02	0.01 ± 0.00	0.00~0.01	0.00 ± 0.00
	含氮化合物							
1	茶吡咯	2167-14-8	1046	1050	4.83~6.19	5.38 ± 0.57	4.91~8.04	6.00 ± 1.76
2	苯乙腈 ^{***}	140-29-4	1140	1140	4.03~5.26	4.54 ± 0.47	1.89~3.01	2.38 ± 0.57
3	咖啡因	58-08-2	1842	1846	0.42~3.18	1.40 ± 1.26	0.58~1.30	0.95 ± 0.36
4	2,5-二甲基-吡嗪	123-32-0	917	909	0.80~1.10	0.97 ± 0.13	0.70~1.13	0.91 ± 0.22
5	1-乙基-1H-吡咯	617-92-5	821	813	0.45~1.38	0.94 ± 0.40	0.59~0.78	0.70 ± 0.10

(续表 1)

序号	化合物名称	CAS	RI		新大红袍		陈年大红袍	
			参考值	计算值	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$
			Ref. ^a	Cal. ^b				
6	呋啉 ***	120-72-9	1 295	1 292	0.54~0.64	0.60 ± 0.05	0.28~0.29	0.29 ± 0.00
7	1-糠基吡咯	1438-94-4	1 185	1 182	0.37~0.63	0.56 ± 0.11	0.62~0.66	0.64 ± 0.02
8	3,5-二甲基-2-乙基-吡啶 ***	13925-07-0	1 084	1 079	0.50~0.55	0.53 ± 0.02	0.42~0.53	0.46 ± 0.06
9	1-硝基-2-乙基 ***	6125-24-2	1 304	1 298	0.28~0.48	0.38 ± 0.08	0.09~0.16	0.12 ± 0.04
10	乙基吡啶	13925-00-3	917	916	0.25~0.34	0.29 ± 0.04	0.15~0.24	0.18 ± 0.05
11	2,5-二甲基-3-(2-甲基丙基)-吡啶	32736-94-0	1 193	1 200	0.20~0.28	0.23 ± 0.03	0.16~0.22	0.18 ± 0.03
12	4,5-二甲基-2-异丙基恶唑	19519-45-0	994	981	0.11~0.18	0.13 ± 0.03	0.09~0.13	0.10 ± 0.02
13	2,5-二甲基-3-(2-甲基丁基)吡啶	72668-36-1	1 308	1 302	0.08~0.12	0.09 ± 0.02	0.04~0.07	0.05 ± 0.01
14	1-甲基-1H-吡啶	930-36-9	715	712	0.04~0.10	0.07 ± 0.03	0.07~0.15	0.12 ± 0.04
15	2-咪喃甲腈	617-90-3	822	805	0.02~0.05	0.04 ± 0.01	0.04~0.04	0.04 ± 0.00
16	2-羟基-3-氧基吡啶	20577-27-9	1 173	1 165	0.02~0.04	0.03 ± 0.01	0.03~0.05	0.04 ± 0.01
17	2-异丁基-3-甲基吡啶	13925-06-9	1 134	1 137	0.03~0.04	0.03 ± 0.00	0.03~0.03	0.03 ± 0.00
18	2-甲基-3,5-二乙基-吡啶	18138-05-1	1 162	1 158	0.02~0.05	0.03 ± 0.01	0.01~0.03	0.02 ± 0.01
19	三甲基恶唑	20662-84-4	852	855	0.02~0.05	0.03 ± 0.01	0.01~0.02	0.02 ± 0.01
	芳香烃							
1	1,1,6-三甲基-1,2-二氢萘	30364-38-6	1 354	1 353	3.61~4.74	4.27 ± 0.58	4.12~5.85	5.24 ± 0.97
2	间二甲苯	108-38-3	870	877	1.92~4.71	3.06 ± 1.05	1.44~3.23	2.44 ± 0.91
3	对伞花烃	99-87-6	1 025	1 026	2.13~3.21	2.50 ± 0.44	3.04~3.33	3.15 ± 0.16
4	1,3-二叔丁基苯	1014-60-4	1 247	1 253	0.93~1.96	1.42 ± 0.37	1.70~2.00	1.80 ± 0.17
5	甲苯	108-88-3	766	775	0.60~1.90	1.29 ± 0.56	0.8~1.33	1.03 ± 0.28
6	三甲苯	108-67-8	995	996	0.83~1.23	0.99 ± 0.16	1.09~1.23	1.17 ± 0.07
7	萘 **	91-20-3	1 182	1 183	0.30~0.57	0.39 ± 0.11	0.56~0.62	0.58 ± 0.03
8	2-甲基萘	91-57-6	1 300	1 293	0.02~0.09	0.04 ± 0.03	0.06~0.09	0.08 ± 0.02
9	1-乙基-2-甲基萘	611-14-3	972	982	0.01~0.02	0.02 ± 0.00	0.00~0.10	0.06 ± 0.05
10	2,2',5',5'-四甲基联苯基	3075-84-1	1 669	1 678	0.00~0.04	0.01 ± 0.01	0.00~0.01	0.01 ± 0.00
11	菲	85-01-8	1 780	1 775	0.01~0.02	0.01 ± 0.01	0.01~0.01	0.01 ± 0.00
12	1-乙基-2,4-二甲苯	874-41-9	1 087	1 085	0.00~0.00	0.00 ± 0.00	0.01~0.01	0.01 ± 0.00
	酯类							
1	水杨酸甲酯	119-36-8	1 193	1 194	2.69~4.37	3.57 ± 0.76	4.54~4.99	4.72 ± 0.24
2	顺-3-己酸己烯酯 ***	31501-11-8	1 376	1 379	1.61~2.36	2.03 ± 0.28	0.79~0.88	0.84 ± 0.05
3	2-糠酸甲酯 ***	611-13-2	983	976	1.22~1.70	1.46 ± 0.21	2.15~2.84	2.52 ± 0.35
4	己酸己酯 ***	6378-65-0	1 387	1 384	0.85~1.14	0.98 ± 0.12	0.30~0.52	0.38 ± 0.12

(续表 1)

序号	化合物名称	CAS	RI		新大红袍		陈大红袍	
			参考值 Ref. ^a	计算值 Cal. ^b	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$
5	反-2-己酸己烯酯***	53398-86-0	1391	1387	0.66~0.99	0.80 ± 0.13	0.22~0.40	0.28 ± 0.10
6	己酸甲酯	106-70-7	925	924	0.32~0.81	0.50 ± 0.18	0.51~0.62	0.57 ± 0.06
7	乙酸苯乙酯***	103-45-7	1245	1255	0.38~0.45	0.42 ± 0.03	0.32~0.36	0.34 ± 0.02
8	苯乙酸甲酯	101-41-7	1179	1178	0.32~0.47	0.38 ± 0.06	0.45~0.57	0.50 ± 0.06
9	苯甲酸甲酯	93-58-3	1094	1096	0.25~0.34	0.29 ± 0.04	0.39~0.45	0.41 ± 0.03
10	2-甲基丁酸己酯***	10032-15-2	1236	1235	0.22~0.37	0.29 ± 0.05	0.09~0.16	0.12 ± 0.04
11	丁酸苯乙酯***	103-52-6	1444	1439	0.21~0.33	0.28 ± 0.05	0.12~0.14	0.13 ± 0.01
12	2-甲基丁酸-2-苯乙酯***	24817-51-4	1488	1486	0.21~0.33	0.28 ± 0.05	0.16~0.16	0.16 ± 0.00
13	顺-3-己烯醇苯甲酸酯	25152-85-6	1570	1570	0.15~0.33	0.22 ± 0.08	0.13~0.16	0.14 ± 0.02
14	苯甲酸己酯	6789-88-4	1580	1577	0.13~0.29	0.19 ± 0.07	0.08~0.14	0.10 ± 0.03
15	乙酸苯酯	140-11-4	1164	1164	0.15~0.21	0.18 ± 0.03	0.19~0.21	0.20 ± 0.01
16	顺-3-己烯酸甲酯	13894-62-7	933	933	0.08~0.18	0.13 ± 0.04	0.08~0.09	0.08 ± 0.01
17	反-2-苯甲酸己烯酯	76841-70-8	1588	1584	0.08~0.22	0.13 ± 0.06	0.04~0.09	0.06 ± 0.03
18	丁酸己酯	2639-63-6	1192	1190	0.08~0.18	0.12 ± 0.04	0.04~0.05	0.04 ± 0.01
19	棕榈酸甲酯	112-39-0	1926	1921	0.06~0.15	0.11 ± 0.04	0.12~0.13	0.13 ± 0.01
20	辛酸甲酯	111-11-5	1126	1124	0.07~0.14	0.09 ± 0.03	0.08~0.10	0.09 ± 0.01
21	庚酸甲酯	106-73-0	1026	1025	0.05~0.11	0.07 ± 0.02	0.08~0.08	0.08 ± 0.00
22	香叶酸甲酯	1189-09-9	1324	1321	0.04~0.07	0.06 ± 0.01	0.04~0.05	0.04 ± 0.00
23	反-2-己烯基异戊酸酯	68698-59-9	1245	1237	0.05~0.07	0.06 ± 0.01	0.02~0.04	0.02 ± 0.01
24	2-甲基丁酸叶醇酯	53398-85-9	1234	1234	0.04~0.05	0.05 ± 0.01	0.05~0.07	0.06 ± 0.01
25	壬酸甲酯	1731-84-6	1227	1222	0.03~0.05	0.04 ± 0.01	0.04~0.04	0.04 ± 0.00
26	顺-3-丁酸己烯酯	61444-41-5	1562	1576	0.04~0.06	0.04 ± 0.01	0.02~0.02	0.02 ± 0.00
27	3-苯丙酸甲酯	103-25-3	1279	1276	0.02~0.05	0.03 ± 0.01	0.03~0.03	0.03 ± 0.00
28	异戊酸甲酯	556-24-1	773	781	0.02~0.04	0.02 ± 0.01	0.03~0.04	0.03 ± 0.01
29	2-甲基丁酸甲酯	868-57-5	783	782	0.01~0.02	0.01 ± 0.00	0.01~0.02	0.01 ± 0.00
30	邻苯二甲酸二乙酯	84-66-2	1594	1594	0.00~0.04	0.01 ± 0.02	0.01~0.01	0.01 ± 0.00
31	邻苯二甲酸二丁酯	84-74-2	1960	1959	0.00~0.02	0.01 ± 0.00	0.01~0.01	0.01 ± 0.00
32	苯甲酸苯酯	120-51-4	1766	1763	0.00~0.01	0.00 ± 0.00	0.00~0.00	0.00 ± 0.00
	酮类							
1	苯丙酮***	93-55-0	1164	1165	0.95~1.64	1.29 ± 0.30	2.30~3.34	2.88 ± 0.53
2	反,反-3,5-辛二烯-2-酮**	30086-02-3	1072	1070	1.26~2.97	1.93 ± 0.70	1.30~1.55	1.39 ± 0.14
3	反-β-紫罗兰酮***	79-77-6	1485	1486	1.13~2.25	1.69 ± 0.43	0.92~1.10	1.00 ± 0.09

(续表 1)

序号	化合物名称	CAS	RI		新大红袍		陈年大红袍	
			参考值 Ref. ^a	计算值 Cal. ^b	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$
4	对甲基苯乙酮	122-00-9	1 183	1 184	0.75~1.20	0.94 ± 0.20	0.98~1.12	1.07 ± 0.08
5	2-庚酮	110-43-0	900	897	0.67~1.23	0.91 ± 0.22	0.63~1.10	0.89 ± 0.24
6	6-甲基-5-庚烯-2-酮	110-93-0	986	988	0.79~1.02	0.90 ± 0.10	0.81~0.91	0.85 ± 0.06
7	苯乙酮	98-86-2	1 065	1 067	0.66~0.86	0.75 ± 0.09	0.94~1.07	1.00 ± 0.07
8	3,5-辛二烯-2-酮 ^{**1}	38284-27-4	1 091	1 093	0.32~0.75	0.56 ± 0.16	0.33~0.46	0.38 ± 0.07
9	2,2,6-三甲基-环己酮	2408-37-9	1 047	1 036	0.45~0.72	0.54 ± 0.11	0.65~0.71	0.68 ± 0.03
10	α -紫罗兰酮 ^{***}	127-41-3	1 427	1 427	0.33~0.62	0.47 ± 0.12	0.31~0.33	0.32 ± 0.01
11	2-壬酮	821-55-6	1 095	1 091	0.24~0.39	0.28 ± 0.06	0.20~0.27	0.23 ± 0.04
12	5-乙基-6-甲基-3E-庚烯-2-酮	57283-79-1	1 144	1 147	0.23~0.30	0.26 ± 0.03	0.19~0.24	0.21 ± 0.03
13	6-甲基-3,5-庚二烯-2-酮	1604-28-0	1 106	1 104	0.17~0.30	0.23 ± 0.05	0.22~0.27	0.25 ± 0.03
14	香叶基丙酮	3796-70-1	1 454	1 451	0.16~0.27	0.20 ± 0.05	0.19~0.23	0.21 ± 0.02
15	植酮	502-69-2	1 844	1 841	0.14~0.21	0.17 ± 0.03	0.20~0.24	0.22 ± 0.02
16	间甲基苯乙酮	585-74-0	1 182	1 173	0.14~0.20	0.17 ± 0.03	0.17~0.17	0.17 ± 0.00
17	6,10-二甲基-2-十一酮	1604-34-8	1 407	1 402	0.09~0.14	0.12 ± 0.02	0.14~0.15	0.14 ± 0.01
18	脱氢- β -紫罗兰酮	1203-08-3	1 485	1 482	0.07~0.20	0.12 ± 0.05	0.08~0.10	0.09 ± 0.01
19	3-辛烯-2-酮	1669-44-9	1 040	1 039	0.06~0.15	0.09 ± 0.04	0.03~0.07	0.05 ± 0.02
20	3-壬烯-2-酮	14309-57-0	1 136	1 138	0.05~0.06	0.06 ± 0.01	0.04~0.06	0.05 ± 0.01
21	茉莉酮	488-10-8	1 391	1 398	0.03~0.06	0.04 ± 0.01	0.02~0.03	0.02 ± 0.00
22	2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮	1125-21-9	1 147	1 144	0.03~0.04	0.03 ± 0.00	0.04~0.05	0.05 ± 0.00
23	6-十二烷酮	6064-27-3	1 354	1 369	0.02~0.03	0.03 ± 0.00	0.02~0.02	0.02 ± 0.00
24	3-己酮	589-38-8	786	767	0.02~0.04	0.02 ± 0.01	0.02~0.03	0.02 ± 0.01
25	二氢- β -紫罗兰酮	17283-81-7	1 433	1 438	0.01~0.02	0.01 ± 0.00	0.01~0.02	0.01 ± 0.00
26	2,6-二叔丁基苯醌 烯烃类	719-22-2	1 458	1 466	0.01~0.01	0.01 ± 0.00	0.01~0.01	0.01 ± 0.00
1	柠檬烯 [*]	138-86-3	1 030	1 030	1.09~1.51	1.28 ± 0.18	1.17~1.29	1.22 ± 0.06
2	β -月桂烯 ^{***}	123-35-3	992	993	0.62~0.77	0.67 ± 0.06	0.43~0.45	0.44 ± 0.01
3	2,6-二甲基-2,6-辛二烯 ^{***}	2792-39-4	990	1 003	0.57~0.72	0.63 ± 0.06	0.43~0.49	0.47 ± 0.03
4	1-异丙烯基-3-甲基苯	1124-20-5	1 085	1 089	0.26~0.33	0.29 ± 0.03	0.30~0.34	0.32 ± 0.02
5	苯乙烯	100-42-5	895	899	0.17~0.36	0.26 ± 0.07	0.23~0.36	0.31 ± 0.07
6	4-萜烯	29050-33-7	1 018	1 017	0.18~0.26	0.22 ± 0.03	0.17~0.18	0.18 ± 0.01
7	反- β -罗勒烯	3779-61-1	1 049	1 038	0.19~0.28	0.22 ± 0.03	0.11~0.15	0.13 ± 0.02
8	α -柏木烯	469-61-4	1 418	1 414	0.08~0.48	0.17 ± 0.17	0.13~0.21	0.16 ± 0.04

(续表 1)

序号	化合物名称	CAS	RI		新大红袍		陈年大红袍	
			参考值 Ref. ^a	计算值 Cal. ^b	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$
9	反-别罗勒烯	3016-19-1	1144	1140	0.13~0.20	0.17 ± 0.03	0.11~0.11	0.11 ± 0.00
10	反-β-金合欢烯	18794-84-8	1457	1455	0.14~0.21	0.16 ± 0.03	0.08~0.09	0.08 ± 0.00
11	新植二烯	504-96-1	1837	1835	0.09~0.21	0.16 ± 0.06	0.12~0.30	0.24 ± 0.10
12	别罗勒烯	7216-56-0	1131	1128	0.12~0.16	0.15 ± 0.02	0.09~0.09	0.09 ± 0.00
13	1-丙基-环己烯	2539-75-5	949	944	0.07~0.23	0.12 ± 0.07	0.06~0.15	0.11 ± 0.05
14	α-姜黄烯	644-30-4	1483	1482	0.11~0.15	0.12 ± 0.02	0.09~0.11	0.10 ± 0.01
15	萹蒎烯	483-76-1	1531	1530	0.10~0.14	0.11 ± 0.02	0.07~0.10	0.09 ± 0.02
16	反-4-(2-丁烯基)-1,2-二甲苯	54340-86-2	1311	1293	0.05~0.09	0.07 ± 0.02	0.10~0.14	0.12 ± 0.02
17	1-石竹烯	87-44-5	1420	1423	0.03~0.14	0.06 ± 0.04	0.05~0.08	0.06 ± 0.02
18	2,3,6-三甲基-1,5-庚二烯	33501-88-1	1055	1053	0.04~0.05	0.05 ± 0.00	0.05~0.05	0.05 ± 0.00
19	γ-萹蒎烯	99-85-4	1060	1059	0.03~0.04	0.04 ± 0.01	0.03~0.05	0.04 ± 0.01
20	α-二去氢萹蒎烯	21391-99-1	1542	1544	0.03~0.05	0.04 ± 0.01	0.02~0.03	0.03 ± 0.01
21	α-水芹烯	99-83-2	1004	1007	0.03~0.04	0.04 ± 0.00	0.02~0.02	0.02 ± 0.00
22	α-甜没药烯	25532-79-0	1540	1542	0.02~0.04	0.03 ± 0.01	0.02~0.02	0.02 ± 0.00
23	β-甜没药烯	495-61-4	1509	1508	0.02~0.03	0.03 ± 0.00	0.02~0.02	0.02 ± 0.00
24	β-罗勒烯	13877-91-3	1040	1048	0.02~0.03	0.02 ± 0.00	0.01~0.02	0.02 ± 0.00
25	γ-草澄茄烯	39029-41-9	1513	1515	0.02~0.03	0.03 ± 0.01	0.02~0.03	0.03 ± 0.01
26	α-法尼烯	502-61-4	1508	1506	0.02~0.02	0.02 ± 0.00	0.00~0.00	0.00 ± 0.00
27	反-β-甲基苯乙烯	637-50-3	1011	1027	0.01~0.03	0.01 ± 0.01	0.02~0.02	0.02 ± 0.00
28	1-十六烯	629-73-2	1587	1589	0.01~0.02	0.01 ± 0.00	0.01~0.01	0.01 ± 0.00
29	α-二去氢草澄茄烯	20129-39-9	1629	1624	0.00~0.00	0.00 ± 0.00	0.00~0.00	0.00 ± 0.00
	醇类							
1	苯乙醇***	60-12-8	1116	1119	0.92~1.72	1.32 ± 0.37	0.62~0.91	0.77 ± 0.15
2	反-橙花叔醇***	40716-66-3	1564	1563	0.78~1.15	0.90 ± 0.14	0.28~0.37	0.31 ± 0.05
3	顺-呋喃型芳樟醇氧化物	5989-33-3	1074	1073	0.66~0.82	0.74 ± 0.07	0.89~1.01	0.93 ± 0.06
4	芳樟醇***	78-70-6	1101	1099	0.26~0.35	0.31 ± 0.03	0.17~0.21	0.18 ± 0.02
5	α-松油醇	98-55-5	1198	1191	0.26~0.4	0.30 ± 0.06	0.25~0.3	0.28 ± 0.03
6	橙花醇***	106-25-2	1254	1253	0.19~0.44	0.28 ± 0.10	0.07~0.12	0.08 ± 0.03
7	1-己醇	111-27-3	865	874	0.08~0.11	0.09 ± 0.01	0.03~0.07	0.06 ± 0.02
8	1-辛烯-3-醇	3391-86-4	980	979	0.07~0.09	0.08 ± 0.01	0.06~0.09	0.07 ± 0.02
9	1-壬醇	143-08-8	1169	1170	0.06~0.08	0.07 ± 0.01	0.06~0.07	0.06 ± 0.01
10	α-甜没药醇氧化物 B	26184-88-3	1658	1656	0.05~0.09	0.06 ± 0.02	0.05~0.05	0.05 ± 0.00

(续表 1)

序号	化合物名称	CAS	RI		新大红袍		陈年大红袍	
			参考值 Ref. ^a	计算值 Cal. ^b	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$
11	异植物醇	505-32-8	1939	1943	0.03~0.05	0.04 ± 0.01	0.03~0.03	0.03 ± 0.00
12	柏木脑	77-53-2	1596	1605	0.01~0.08	0.03 ± 0.03	0.01~0.04	0.02 ± 0.01
13	橙花叔醇	142-50-7	1535	1531	0.00~0.01	0.01 ± 0.00	0.00~0.01	0.00 ± 0.00
14	叶绿醇	150-86-7	2105	2106	0.00~0.01	0.01 ± 0.00	0.00~0.00	0.00 ± 0.00
	烷烃类							
1	十二烷*	2244-07-7	1200	1196	0.41~0.60	0.50 ± 0.08	0.57~1.02	0.81 ± 0.23
2	2,6-二甲基壬烷	17302-28-2	1022	1023	0.39~0.50	0.45 ± 0.04	0.63~0.79	0.72 ± 0.08
3	十三烷	629-50-5	1300	1290	0.28~0.49	0.40 ± 0.08	0.41~0.64	0.53 ± 0.11
4	十四烷	629-59-4	1400	1390	0.19~0.24	0.22 ± 0.02	0.22~0.46	0.34 ± 0.12
5	十六烷	544-76-3	1600	1600	0.06~0.23	0.10 ± 0.07	0.09~0.11	0.10 ± 0.01
6	4,8-二甲基-十一烷	17301-33-6	1217	1219	0.08~0.10	0.09 ± 0.01	0.1~0.14	0.12 ± 0.02
7	2,6,10-三甲基十三烷	3891-99-4	1465	1459	0.08~0.09	0.09 ± 0.00	0.09~0.12	0.10 ± 0.02
8	2-甲基壬烷	871-83-0	970	963	0.04~0.05	0.05 ± 0.01	0.06~0.08	0.07 ± 0.01
9	十一烷	1120-21-4	1100	1098	0.02~0.04	0.03 ± 0.01	0.04~0.10	0.08 ± 0.03
10	3-甲基-十三烷	6418-41-3	1369	1367	0.01~0.02	0.02 ± 0.00	0.02~0.03	0.02 ± 0.01
11	2-甲基-庚烷	592-27-8	760	771	0.01~0.03	0.02 ± 0.01	0.02~0.03	0.03 ± 0.00
12	3-甲基壬烷	5911-04-6	976	974	0.01~0.02	0.02 ± 0.00	0.02~0.03	0.02 ± 0.00
	氧杂环化合物							
1	2-乙酰基咪喃***	1192-62-7	911	914	0.88~1.22	1.01 ± 0.13	0.85~0.89	0.86 ± 0.02
2	2-正戊基咪喃	3777-69-3	991	993	0.30~0.46	0.38 ± 0.07	0.33~0.41	0.37 ± 0.04
3	2,2'-二亚甲基二咪喃	1197-40-6	1086	1083	0.07~0.19	0.10 ± 0.05	0.12~0.19	0.16 ± 0.03
4	3,4-二氢-6-甲基-2H-吡喃	16015-11-5	780	765	0.05~0.08	0.07 ± 0.01	0.03~0.07	0.05 ± 0.02
5	反-脱羟基芳樟醇氧化物	54750-70-8	994	995	0.05~0.08	0.06 ± 0.01	0.07~0.08	0.08 ± 0.00
6	顺-脱羟基芳樟醇氧化物	54750-69-5	1009	1010	0.04~0.07	0.05 ± 0.01	0.05~0.06	0.06 ± 0.00
7	2-乙烯基-2,6,6-三甲基四氢-2H-吡喃	7392-19-0	972	976	0.02~0.03	0.02 ± 0.00	0.03~0.03	0.03 ± 0.00
8	二苯并咪喃	132-64-9	1514	1513	0.01~0.02	0.01 ± 0.01	0.01~0.02	0.01 ± 0.00
	内酯类							
1	二氢猕猴桃内酯	15356-74-8	1525	1538	0.62~1.51	1.03 ± 0.35	1.19~1.21	1.20 ± 0.01
2	γ-壬内酯	104-61-0	1363	1361	0.17~0.30	0.23 ± 0.05	0.19~0.20	0.19 ± 0.00
3	2(5H)-咪喃酮	497-23-4	918	926	0.03~0.06	0.05 ± 0.01	0.05~0.06	0.05 ± 0.00
4	香豆素	91-64-5	1432	1436	0.01~0.04	0.03 ± 0.01	0.02~0.03	0.02 ± 0.00

(续表 1)

序号	化合物名称	CAS	RI		新大红袍		陈年大红袍	
			参考值 Ref. ^a	计算值 Cal. ^b	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$	含量范围/%	$\bar{x} \pm s$
酚类								
1	2,6-二叔丁基对甲酚	128-37-0	1 513	1 512	0.02~0.08	0.04 ± 0.02	0.03~0.04	0.04 ± 0.01
2	4-仲丁基苯酚	99-71-8	1 314	1 318	0.01~0.05	0.03 ± 0.02	0.03~0.04	0.03 ± 0.00
含硫化合物								
1	二甲基二硫	624-92-0	756	760	0.00~0.10	0.04 ± 0.04	0.05~0.1	0.08 ± 0.03
有机酸类								
1	4-羟基-丁酸	591-81-1	933	923	0.03~0.04	0.03 ± 0.01	0.02~0.03	0.03 ± 0.00

注: a: RI 参考值表示参考文献中报道过的 RI 值,来源于 NIST Chemistry WebBook 网站^[24](网址: <https://webbook.nist.gov/chemistry/>); b: RI 计算值表示通过 C8-C40 正构烷烃 RI 值计算得到的化合物 RI 值; c: 通过 Mann-Whitney U 非参数检验,对新大红袍和陈年大红袍两组样品香气化合物的相对含量进行统计学分析; * 表示两组数据存在统计学差异 ($P < 0.05$); ** 表示两组数据存在显著差异 ($P < 0.01$); *** 表示两组数据存在极显著差异 ($P < 0.001$),下同。d: 表中“3,5-辛二烯-2-酮”为异构体,由于缺乏标准品,因此准确构型暂时无法确定。

Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA) 是一种常用的有监督模式的统计分析方法,它通过人为加入分组变量,强化了组间差异。PLS-DA 变量重要性因子 (Variable Important for the Projection, VIP) 可以量化 PLS-DA 模型中每个变量对分组的贡献,通常 VIP 值大于 1 的化合物,可作为分组变量互相区分的特征成分^[26-27]。PCA 和 PLS-DA 两种模型结合使用,相互验证,可以使得分类结果更科学合理。

本研究采用多元统计分析手段对新、陈大红袍中鉴定出的 185 种共有香气化合物进行分析,首先基于香气成分的定量离子峰面积建立了 PCA 模型(拟合参数为 $R^2X=0.896$, $Q^2=0.617$),通过 PCA 得分图(图 3a)可见,新大红袍和陈年大红袍两组样品可以得到较好的区分,说明两个组别的大红袍样品的香气物质基础存在显著性差异。为了查明两个组别样品间的具体差异性香气成分,进一步建立了 PLS-DA 模型(拟合参数为 $R^2X=0.942$, $Q^2=0.840$),通过该模型更好地区分了新大红袍和陈年大红袍两组样品(图 3b),并且鉴定出区分两组样品的 40 种关键变量(VIP>1)。为了避免模型“过拟合”,进一步对 PLS-DA

模型进行 200 次的交叉验证,结果表明该验证模型 Q^2 回归直线与 Y 轴的截距均小于零 ($R^2 = 0.288$, $Q^2 = -0.340$),说明了该模型的可靠性。进一步对上述 40 种关键变量进行 Mann-Whitney U 非参数检验,结果表明共有 31 种香气化合物在新大红袍和陈年大红袍两组样品之间存在统计学差异 ($P < 0.05$)。这些关键差异性香气成分(表 1 标注*)包括苯乙腈、顺-3-己酸己烯酯、苯丙酮、苯甲醛、反-2,4-庚二烯醛、反- β -紫罗兰酮、己酸己酯、2-糠酸甲酯、反-橙花叔醇、苯乙醇、反-2-己酸己烯酯、反-3,5-辛二烯-2-酮、呋喃、1-硝基-2-乙基- β -月桂烯、2-乙酰基呋喃、3,5-辛二烯-2-酮、2-甲基丁酸己酯、2,6-二甲基-2,6-辛二烯、橙花醇、丁酸苯乙酯、 α -紫罗兰酮、 β -环柠檬醛、2-甲基丁酸-2-苯乙酯、芳樟醇、柠檬烯、3,5-二甲基-2-乙基-吡嗪、十二烷、壬醛、萘和乙酸苯乙酯。

为了直观地展示这些关键差异性香气化合物在新大红袍和陈年大红袍中的分布规律,我们采用层序聚类分析 (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) 对这些成分进行了分析(图 4),图中横向表示新大红袍 (N-DHP) 和陈年大红袍 (A-DHP) 样品编号,每个样品重复 3 次(编

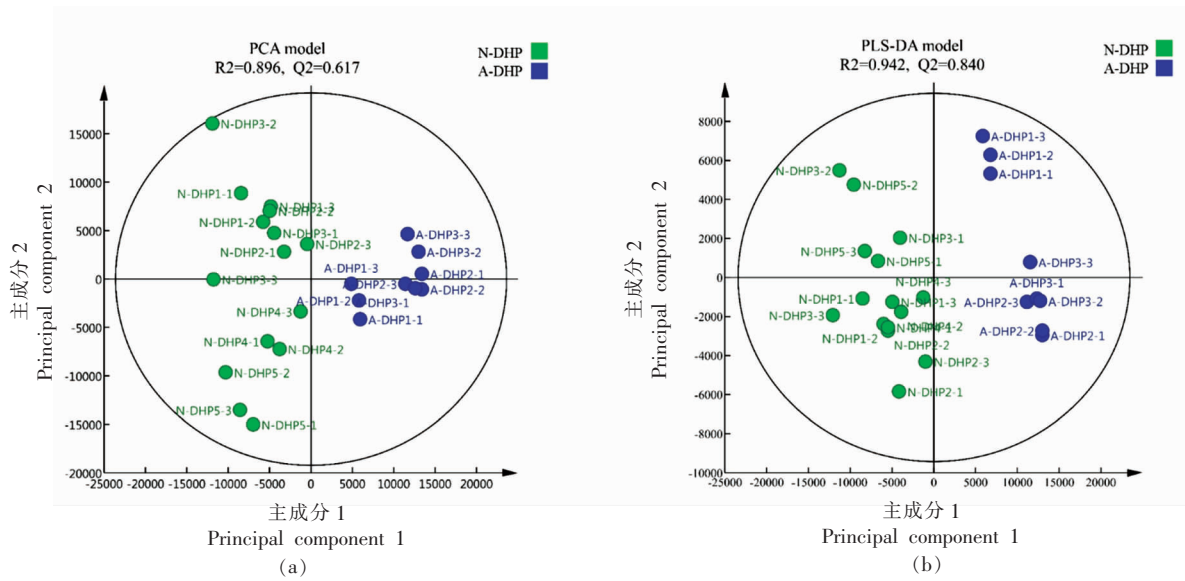
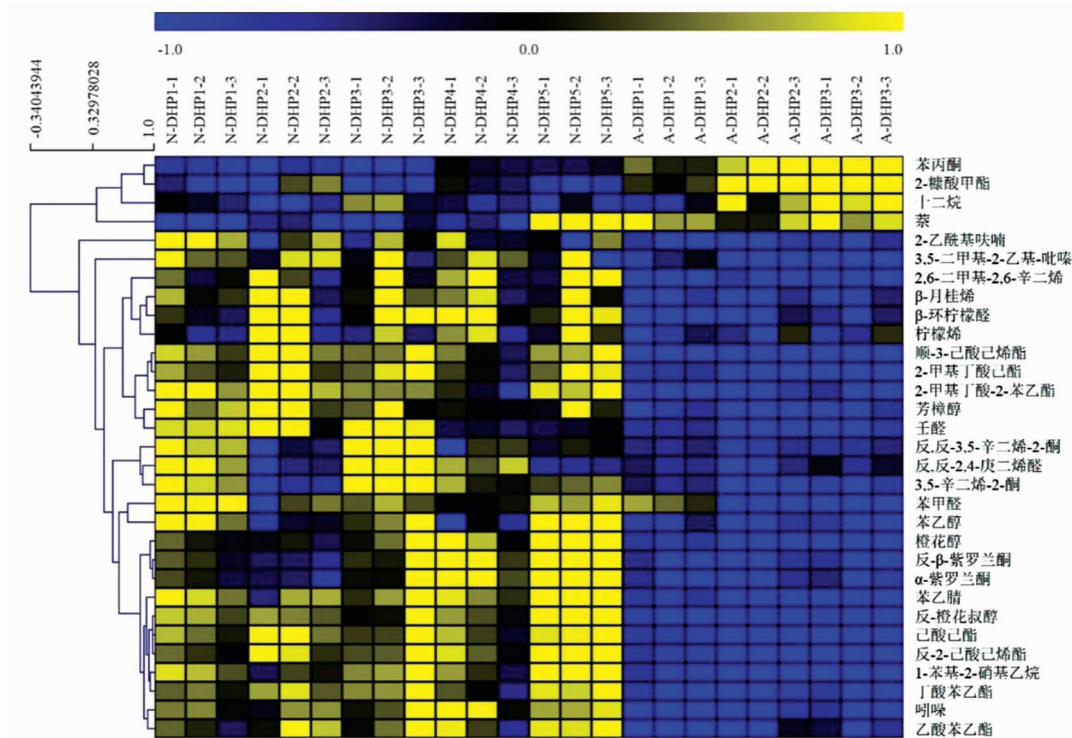


图3 新大红袍和陈年大红袍香气成分的PCA得分图(a)和PLS-DA得分图(b)

Fig.3 PCA score plot (a) and PLS-DA score plot (b) of aroma compounds in new and aged Dahongpao oolong teas



注：为使峰面积数值差异较大的各个化合物之间具可比性，将峰面积原始数据采用Z-score 标准化方法进行归一化处理， $Z\text{-score 值} = (\text{原始数据} - \text{平均值}) / \text{标准差}$ 。通过该方法将不同量级的峰面积数值转化为统一量度的Z-Score 值，并基于Z-Score 值绘制热图。图中黄色表示化合物在样品中含量高于平均值，黄色越深表示含量越高；蓝色代表化合物在样品中含量低于平均值，蓝色越深表示含量越低。

图4 新大红袍和陈年大红袍中关键差异成分热图

Fig.4 Heat map of key aroma compounds with statistical differences in new and aged Dahongpao oolong teas

号-1,-2,-3),纵向为关键差异化合物根据聚类趋势自动排布。黄色表示化合物在样品中含量高于平均值,黄色越深表示含量越高;蓝色代表化合物在样品中含量低于平均值,蓝色越深表示含量越低。从图中可以看出,这些化合物分布具有较强的规律性,基本可被分为两组。苯丙酮、2-糠酸甲酯、十二烷和萘在陈年大红袍中含量显著高于新大红袍中;而其余 27 种化合物包括 2-乙酰基呋喃、3,5-二甲基-2-乙基-吡嗪、2,6-二甲基-2,6-辛二烯、 β -月桂烯、 β -环柠檬醛、柠檬烯、顺-3-己酸己烯酯、2-甲基丁酸己酯、2-甲基丁酸-2-苯乙酯、芳樟醇、壬醛、反,反-3,5-辛二烯-2-酮、反,反-2,4-庚二烯醛、3,5-辛二烯-2-酮、苯甲醛、苯乙醇、橙花醇、反- β -紫罗兰酮、 α -紫罗兰酮、苯乙腈、反-橙花叔醇、己酸己酯、反-2-己酸己烯酯、1-硝基-2-乙苯、丁酸苯乙酯、吡啶和乙酸苯乙酯等在新大红袍中含量显著高于陈年大红袍中。由此可见,虽然在化合物种类分布上,新、陈大红袍并无明显差异,但陈年大红袍的挥发性化合物的含量普遍低于新大红袍,推测与储藏过程中大红袍内含的香气物质随着环境条件的改变而缓慢挥发或转化有关。

2.4 新大红袍和陈年大红袍中香气活性成分的 GC-O 分析

为鉴定出对大红袍香气品质起到直接贡献作用的香气活性化合物,分别对新大红袍和陈年大红袍样品的混合样进行 GC-O 分析。针对可被 3 名及以上审评员闻到的气味进行综合分析,最终有 45 种香气活性成分被鉴定出来,包括醛类化合物 11 种,酮类 10 种,含氮化合物 5 种,酯类 5 种,烯炔类 5 种,醇类 3 种以及芳香烃、氧杂环和内酯类化合物各 2 种。6 名审评员对新大红袍和陈年大红袍样品中香气活性化合物的气味描述和香气强度(AI)打分如表 2 所示。

在新大红袍样品中,鉴定出 41 种香气活性化合物,且有 16 种化合物香气强度可达到“3”及以上。其中具有甜花香和焦糖香的苯乙酮香气强度最高(3.4),其次对伞花烃(甜花香)、反,反-3,5-辛二烯-2-酮(甜香、花果香)、3,5-二甲基-2-乙基-吡嗪(烘烤香、咖啡)、2-甲基-3,5-二乙基-吡嗪(烘烤香、坚果)和水杨酸甲酯(冬青、薄荷、青

草)香气强度也较高(3.3)。此外,香气强度可达到“3”的化合物还有反,顺-2,6-壬二烯醛(青臭、清新草本)、庚醛(脂肪、青草)、2,5-二甲基-吡嗪(烘烤香、坚果)、3,5-辛二烯-2-酮(蘑菇、鲜果)壬醛(清新黄瓜、花果香)、苯乙醇(玫瑰花香、甜花香)、吡啶(清新花香)、己酸己酯(清新草本、甜果香)、香豆素(甜香、香草)和反- β -紫罗兰酮(甜花香、奶香)。值得注意的是 2-甲基-3,5-二乙基-吡嗪、吡啶、2-乙酰基呋喃(烘烤香、咖啡,2.8)、反- β -罗勒烯(清甜、草本香,2.8)和菖蒲烯(清爽,2.0)虽然在两种大红袍样品中均可被检测到,但仅在新大红袍中能够被嗅闻到,被认为是新大红袍的特征性香气活性化合物,其中吡啶和 2-甲基-3,5-二乙基-吡嗪具有较高的香气强度,可能对大红袍香气品质的形成起到更重要的作用。

由上述结果可知,新大红袍中的香气活性化合物多数呈现烘烤香、甜香、花果香和清新等气味特点,这些化合物以不同浓度形式组合形成了武夷岩茶特有的“岩韵”。其中烘烤香的主要贡献物质是吡嗪类化合物,这类化合物往往源于茶叶加工过程中发生的剧烈热化学作用,在热化学作用下易生成吡嗪类、吡咯类、喹啉类及吡啶类等香气物质^[29]。吡嗪类化合物通常认为是茶叶中的氨基酸与儿茶素等在高温下发生“美拉德”反应的产物。吡啶属苯并吡咯类化合物,它的呈香特性与浓度有关,通常在高浓度时具有强烈的令人不快的臭味,但在低浓度时则具有花香^[29],是色氨酸参与的美拉德反应产物。有研究表明,吡啶主要形成于大红袍初制过程中的做青和杀青工艺,是赋予大红袍浓郁花果香的主要香气成分^[13]。此外,苯乙醇(玫瑰花香、甜花香)及己酸己酯(清新草本、甜果香)也是大红袍“花果香”的主要贡献成分,前者主要源于茶树次生代谢的莽草酸合成途径,后者通过醇类物质与乙酰辅酶 A 的生物作用生成,其前体物质主要源于脂肪酸合成代谢途径^[28]。

在陈年大红袍样品中,鉴定出 40 种香气活性化合物,大部分成分在大红袍中也可被嗅闻到,但香气强度达到“3”及以上的化合物相比大红袍更少,只有 6 种,包括反,反-3,5-辛二烯-2-酮(甜香、花果香,3.3)、壬醛(清新黄瓜、花果香,3.3)、反-2-壬醛(青臭、油脂,3.2)、3,5-辛二烯-2-酮

(蘑菇、鲜果,3.0)、反- β -紫罗兰酮(甜花香、奶香,3.0)和辛醛(清新、果香、木香,3.0),除辛醛以外,其它5种嗅感化合物在大红袍中同样有着较强的香气强度。而新大红袍中较为突出的烘烤香型化合物(如吡嗪类、2-乙酰基呋喃等)在陈年大红袍中的香气强度大部分较低,甚至无法被嗅闻到,这可能是陈年大红袍香气品质更为柔和且协调的重要原因。此外,值得注意的是苯甲酸甲酯(花果香、冬青,1.8)、2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮(清甜、木头,2.0)、反-2-癸烯醛(青臭、微甜,2.7)和反,反-2,4-癸二烯醛(油脂、清新草本,2.5)等几种成分虽然在两种大红袍样品中均可被检测到,但是它们在陈年大红袍中含量均高于在新大红袍中的含量(表1),并且仅在陈年大红袍中被

嗅闻到,因此认为它们是陈年大红袍的特征性香气活性成分。茶叶中的许多酮类化合物源于类胡萝卜素的降解,贮藏过程中的光照、温度等变化可能促进大红袍中的类胡萝卜素衍生物发生复杂的降解反应,从而导致某些酮类成分的生成^[28]。类似地,陈年大红袍中特有的部分脂肪醛类化合物可能源自茶叶储藏过程中饱和或不饱和脂肪酸的氧化降解。关于陈年大红袍特征香气成分的研究罕见报道,但有研究表明,3,5-辛二烯-2-酮和2,4-庚二烯醛等较小分子质量的酮和醛类物质是陈(绿)茶中的特征香气物质^[28,30];此外,反-2-癸烯醛等成分曾被证实黑茶陈化过程中含量有一定程度的提高^[31]。

表2 新大红袍和陈年大红袍中香气活性成分的气味特征及强度

Table 2 The odor descriptors and aroma intensity of aroma-active components in new and aged Dahongpao oolong teas

序号	化合物名称	RI ^a	气味描述	香气强度 AI		鉴定方式 ^d
				N-DHP ^b	A-DHP ^c	
1	己醛	795	青草,清新	2.3	2.5	MS,RI,O
2	庚醛	897	脂肪,青草	3.0	2.2	MS,RI,O
3	2,5-二甲基-吡嗪	906	烘烤香,坚果	3.0	2.0	MS,RI,O
4	2-乙酰基呋喃	907	烘烤香,咖啡	2.8	ND ^e	MS,RI,O
5	1-辛烯-3-醇	978	蘑菇,草药,油脂	2.5	1.8	MS,RI,O
6	6-甲基-5-庚烯-2-酮	985	清新,花果香	2.8	2.0	MS,RI,O
7	辛醛	1 001	清新,果香,木香	2.0	3.0	MS,RI,O
8	对伞花烃	1 024	甜花香	3.3	2.3	MS,RI,O
9	反- β -罗勒烯	1 038	清甜,草本香	2.8	ND	MS,RI,O
10	3-辛烯-2-酮	1 039	泥土,草本香,果香	2.8	1.3	MS,RI,O
11	苯乙醛	1 044	玫瑰花香,甜香	2.7	2.0	MS,RI,O
12	γ -萜品烯	1 059	草本香,柠檬,油脂	2.8	2.3	MS,RI,O
13	苯乙酮	1 067	甜花香,焦糖	3.4	2.8	MS,RI,O
14	反,反-3,5-辛二烯-2-酮	1 071	甜香,花果香	3.3	3.3	MS,RI,O
15	3,5-二甲基-2-乙基-吡嗪	1 080	烘烤香,咖啡	3.3	2.5	MS,RI,O
16	2,2'-二亚甲基二呋喃	1 085	烘烤香	2.8	2.0	MS,RI,O
17	3,5-辛二烯-2-酮 f	1 094	蘑菇,鲜果	3.0	3.0	MS,RI,O
18	苯甲酸甲酯	1 096	花果香,冬青	ND	1.8	MS,RI,O
19	芳樟醇	1 101	清新花香,甜香	2.8	2.7	MS,RI,O
20	壬醛	1 105	清新黄瓜,花果香	3.0	3.3	MS,RI,O
21	苯乙醇	1 117	玫瑰花香,甜花香	3.0	2.0	MS,RI,O
22	别罗勒烯	1 130	清爽,草本香	2.2	2.5	MS,RI,O
23	2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮	1 145	清甜,木头	ND	2.0	MS,RI,O
24	5-乙基-6-甲基-3E-庚烯-2-酮	1 148	清新,黄瓜	2.5	2.6	MS,RI,O
25	反,顺-2,6-壬二烯醛	1 154	青臭,清新草本	3.2	2.7	MS,RI,O
26	2-甲基-3,5-二乙基-吡嗪	1 159	烘烤香,坚果	3.3	ND	MS,RI,O
27	反-2-壬醛	1 160	青臭,油脂	2.6	3.2	MS,RI,O

(续表 2)

序号	化合物名称	RI ^a	气味描述	香气强度 AI		鉴定方式 ^d
				N-DHP ^b	A-DHP ^c	
28	茶	1 183	泥土,辛辣刺激	2.0	1.8	MS,RI,O
29	1-糠基吡咯	1 184	辛辣刺激,青臭	2.8	2.5	MS,RI,O
30	水杨酸甲酯	1 196	冬青,薄荷,青草	3.3	2.4	MS,RI,O
31	藏花醛	1 201	草药,金属	2.3	2.5	MS,RI,O
32	乙酸苯乙酯	1 258	清爽花果香,甜香	2.8	2.4	MS,RI,O
33	反-2-癸烯醛	1 262	青臭,微甜	ND	2.7	MS,RI,O
34	反,反-2,4-癸二烯醛	1 316	油脂,清新草本	ND	2.5	MS,RI,O
35	吲哚	1 299	清新花香	3.0	ND	MS,RI,O
36	己酸己酯	1 387	清新草本,甜果香	3.0	1.7	MS,RI,O
37	反-2-己酸己烯酯	1 390	甜花香,清新草本	2.5	2.8	MS,RI,O
38	十二醛	1 409	花果香,金属	2.5	1.0	MS,RI,O
39	α -柏木烯	1 415	清新,甜香	2.3	2.4	MS,RI,O
40	α -紫罗兰酮	1 430	甜花香,奶香	2.5	2.5	MS,RI,O
41	香豆素	1 442	甜香,香草	3.0	2.7	MS,RI,O
42	脱氢- β -紫罗兰酮	1 486	甜花香,奶香	2.8	2.2	MS,RI,O
43	反- β -紫罗兰酮	1 489	甜花香,奶香	3.0	3.0	MS,RI,O
44	萹蒲烯	1 526	清爽	2.0	ND	MS,RI,O
45	二氢猕猴桃内酯	1 534	清爽,甜花香	2.0	2.0	MS,RI,O

注:a: RI 表示通过 HP-5MS 毛细管柱分离化合物的保留指数计算值;b: N-DHP 表示新大红袍;c: A-DHP 表示陈年大红袍;d: 通过 MS,RI 和 O 3 种方式鉴定分析;MS 表示通过化合物质谱图与 Nist 库中质谱图对比分析;RI 表示通过保留指数计算值与文献报道值(表 1 已列出)对比分析;O 表示通过审评员气味描述与文献报道^[17-19]和网站(<http://www.thegoodscentscompany.com/>)中气味描述结合分析;e: “ND”表示不足 3 名审评员识别到的气味,防止误差大,因此此类气味的香气强度(AI)不计数,下同;f:表中“3,5-辛二烯-2-酮”为异构体,由于缺乏标准品,因此准确构型暂时无法确定。

2.5 新大红袍和陈年大红袍的关键差异性香气活性成分分析

由于茶叶香气化合物种类繁多、成分复杂,本研究通过降维手段将 GC-MS 鉴定出的 185 种香气化合物聚焦到 31 种关键差异香气成分上(图 4),然后将这些关键差异香气成分与 GC-O 鉴定出的 45 种香气活性化合物(表 2)综合分析,发现 2-乙酰基呋喃、3,5-二甲基-2-乙基-吡嗪、芳樟醇、壬醛、反,反-3,5-辛二烯-2-酮、3,5-辛二烯-2-酮、苯乙醇、反- β -紫罗兰酮、 α -紫罗兰酮、己酸己酯、反-2-己酸己烯酯、吲哚、乙酸苯乙酯和萘等 14 种化合物既在新、陈两组大红袍样品之间存在统计学差异,同时又可通过 GC-O 被实际嗅闻到。由于仪器检测存在一定的不稳定性,且 GC-O 分析受审评人员主观性影响,因此这两部分试验结果难免出现不一致的情况。为最大程度减少误差且准确鉴定出两种大红袍中的关键差异性香气活性化合物,接下来结合新大红袍和陈年大红袍两

组样品的平均峰面积和 GC-O 香气强度值(AI)对这些化合物进行综合分析。

在图 5 中,上、下两个纵坐标分别表示定量离子峰面积和香气强度值(AI),柱状图中蓝色代表新大红袍,红色代表陈年大红袍,通过比较上、下两组柱状图,可以直观看出每个化合物峰面积与其香气强度值(AI)的对应关系。如图所示,2-乙酰基呋喃、3,5-二甲基-2-乙基-吡嗪、芳樟醇、苯乙醇、乙酸苯乙酯、吲哚和己酸己酯等 7 种化合物的峰面积与香气强度值均呈现一致的变化趋势,说明它们对于区分新大红袍和陈年大红袍香气具有重要贡献,是区分新、陈大红袍的关键差异性香气活性成分。而且这些化合物在新大红袍中的峰面积和香气强度值均明显高于陈年大红袍中,它们通常表现为烘烤香、花香、甜香等愉悦的气味特征。虽然通过 GC-O 等手段对大红袍中关键呈香成分的研究较少,但有研究表明,这些化合物是某些茶叶中的重要呈香成分。比如,芳樟醇是茶叶中

常见的关键呈香成分之一,它是一种单萜烯醇类物质,具有令人愉悦的花香,其在多种茶类特征香气研究中已受到较多关注^[23,32-34];苯乙醇等是碧螺春^[35]和工夫红茶^[32]中的关键活性香气成分;吲哚等则是西湖龙井^[36]和金萱乌龙茶^[33]中的特征香气成分。此外,另有研究学者通过 OAV 计算法结合香气重组试验等方法证实了 3,5-二甲基-2-乙基-

吡嗪是武夷岩茶(水仙品种)中烘烤香的关键香气活性化合物^[37]。本研究通过化学计量学方法与嗅闻技术相结合,最终查明区分新大红袍和陈年大红袍的关键香气活性成分,其对于明晰新大红袍和陈年大红袍的香气实质具有重要意义,也为新、陈茶的鉴别及茶叶储藏年份的判别提供了新思路。

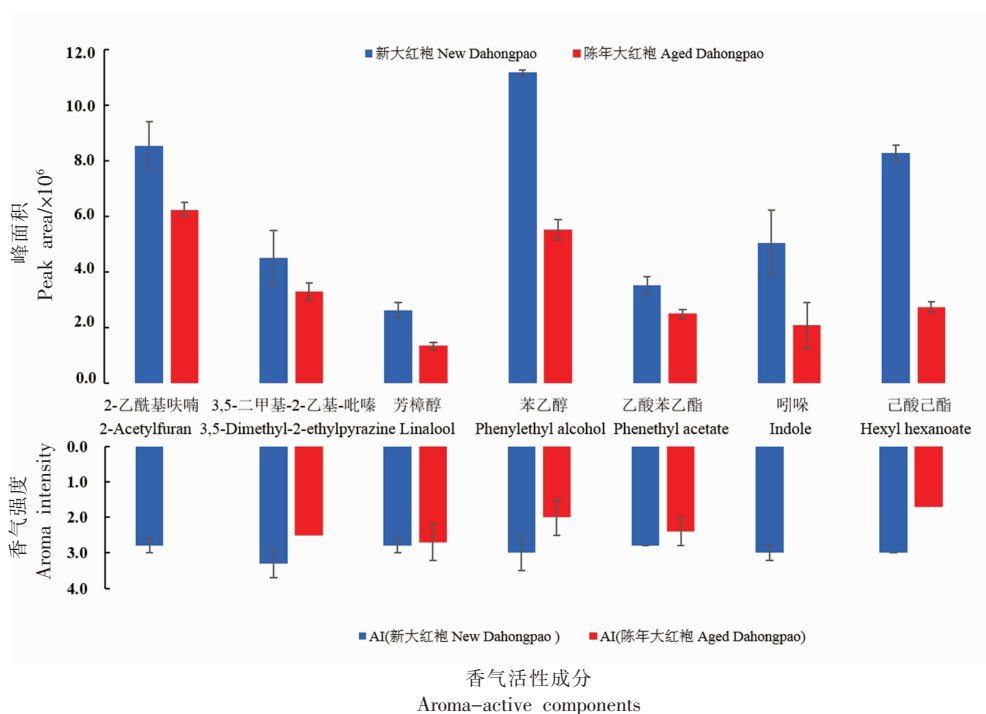


图5 新大红袍和陈年大红袍中关键香气活性成分的峰面积与香气强度(AI)对比

Fig.5 The comparison of peak areas and aroma intensity of key aroma-active components in new and aged Dahongpao oolong teas

然而,具有清新花果香、甜香或奶香等愉悦的气味特性的壬醛、反,反-3,5-辛二烯-2-酮、3,5-辛二烯-2-酮、反- β -紫罗兰酮、 α -紫罗兰酮和反-2-己酸己烯酯等化合物虽然它们可以通过 GC-O 鉴定出来,而且香气活性值也普遍较高(2.5~3.3),但是其峰面积与香气强度值变化趋势并不相同。究其原因,一方面可能是因为 GC-O 分析结果在一定程度上受到人为因素的影响。每个人对气味的敏感程度不同,因此各个审评员对气味等级的界定具有一定的主观性,导致在香气强度值认定上存在一定偏差。再者审评员在持续几十分钟的长时间嗅闻过程中很难保证做到完全集中精力并

且捕捉到所有气味,因此不足3个以上审评员捕捉到的气味,并不能被准确鉴定出来。另一方面,由于大红袍样品间存在个体差异,导致不同样品中的香气物质含量也有所不同,为了最大限度萃取出香气活性化合物,GC-O 分析采用的茶样为混合样,加之萃取纤维材料的萃取容量有限,存在一定的竞争吸附性,因此 GC-O 嗅闻到的香气活性成分浓度可能与单一样品的含量存在一定的差异性。这两方面原因均可能导致部分化合物的峰面积与香气强度值变化趋势不一致,但是不可否认它们对新大红袍和陈年大红袍香气特征形成也具有较为重要的作用。

3 结论

本研究采用HS-SPME-GC-MS结合GC-O/MS技术分析了新、陈大红袍样品中的香气组成及香气活性成分,共鉴定出新、陈大红袍样品中的185种香气化合物及45种香气活性化合物,发现2-甲基-3,5-二乙基-吡嗪、吡啶、2-乙酰基呋喃、反- β -罗勒烯和菖蒲烯仅在新大红袍中能够被嗅闻到,是新大红袍的特征性香气活性化合物;苯甲酸甲酯、2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮、反-2-癸烯醛和反,反-2,4-癸二烯醛是陈年大红袍中的特征性香气活性化合物;综合比较分析GC-MS及GC-O/MS结果,可知2-乙酰基呋喃、3,5-二甲基-2-乙基-吡嗪、芳樟醇、苯乙醇、乙酸苯乙酯、吡啶和己酸己酯是区分新、陈大红袍的关键差异性香气活性成分。本研究有助于人们从更深层次上了解大红袍和陈年大红袍香气品质特征的化学实质,深化茶叶化学理论知识体系,为今后茶叶香气品质调控以及“新陈茶”的科学评判提供一定的科学借鉴。

参 考 文 献

- [1] 林燕萍, 刘宝顺, 黄毅彪, 等. 焙火程度对武夷岩茶“大红袍”品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(22): 49-54.
LIN Y P, LIU B S, HUANG Y B, et al. Effect of baking degrees on the quality of Wuyi rock tea ‘Dahongpao’[J]. Food Research and Development, 2020, 41(22): 49-54.
- [2] 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.
CHEN Y, OU X C, ZHANG Y B, et al. Organoleptic quality analysis of raw Pu-er teas in different storage years[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(4): 48-52.
- [3] 陈梅春, 陈峥, 史怀, 等. 陈年普洱茶特征风味成分分析[J]. 茶叶科学, 2014, 34(1): 45-54.
CHEN M C, CHEN Z, SHI H, et al. Analysis on characteristic flavor components of aged Pu-erh Tea [J]. Journal of Tea Science, 2014, 34(1): 45-54.
- [4] 文祎. 安溪铁观音品质化学及抗炎功能研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2018.
- [5] 余宏. 浅谈福鼎白茶及老白茶的特点[J]. 茶叶, 2017, 43(4): 228-230.
YU H. The status quo of Fuding white tea and the aged white tea[J]. Journal of Tea, 2017, 43(4): 228-230.
- [6] 石玉涛, 郑淑琳, 李小燕, 等. 贮藏时间对武夷岩茶品质成分和抗氧化活性的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(6): 46-51.
SHI Y T, ZHENG S L, LI X Y, et al. Influence of storage time on quality components and antioxidant activity of Wuyi Rock Essence Tea[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(6): 46-51.
- [7] CHEN Y J, KUO P C, YANG M L, et al. Effects of baking and aging on the changes of phenolic and volatile compounds in the preparation of old Tieguanyin oolong teas[J]. Food Research International, 2013, 53(2): 732-743.
- [8] WANG Y F, SHAO S H, XU P, et al. Fermentation process enhanced production and bioactivities of oolong tea polysaccharides[J]. Food Research International, 2012, 46(1): 158-166.
- [9] ZHANG Y T, LI Q, XING H, et al. Evaluation of antioxidant activity of ten compounds in different tea samples by means of an on-line HPLC-DPPH assay [J]. Food Research International, 2013, 53(2): 847-856.
- [10] 田奥磊, 高俊杰, 李丹丹, 等. 武夷岩茶大红袍的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学报, 2017, 53(4): 619-624.
TIAN A L, GAO J J, LI D D, et al. Tissue culture and rapid propagation of *Camellia sinensis* Dahongpao[J]. Plant Physiology Journal, 2017, 53(4): 619-624.
- [11] 徐斌. 大红袍茶树品种选育研究报告[J]. 茶叶科学技术, 2013, 54(1): 17-19.
XU B. A breeding report on the tea variety Dahongpao (*Camellia sinensis*) [J]. Tea Science and Technology, 2013, 54(1): 17-19.
- [12] 柴斐, 郭雯飞. 烘干大红袍和冰冻大红袍香气成分分析与比较[J]. 浙江大学学报(理学版), 2010, 37(4): 459-462.
CHAI F, GUO W F. Analysis of the aromatic compositions in baked Dahongpao and freezing Dahong-

- pao[J]. Journal of Zhejiang University (Science Edition), 2010, 37(4): 459-462.
- [13] 王芳, 张见明, 李博, 等. 武夷大红袍初制过程中香型与香气成分的变化规律[J]. 茶叶科学, 2019, 39(4): 455-463.
- WANG F, ZHANG J M, LI B, et al. Dynamics of scent type and aroma components of Wuyi Dahongpao during the preliminary processing[J]. Journal of Tea Science, 2019, 39(4): 455-463.
- [14] 陈金华, 王英姿, 黄建安. 不同烘焙温度对大红袍香气成分的影响[J]. 茶叶通讯, 2020, 47(3): 433-442.
- CHEN J H, WANG Y Z, HUANG J A. Effect of different baking temperature on aroma components of Dahongpao Oolong Tea[J]. Journal of Tea Communication, 2020, 47(3): 433-442.
- [15] 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.
- WANG M Q, ZHU M, ZHANG Y, et al. A review of recent research on key aroma compounds in tea [J]. Food Science, 2019, 40(23): 341-349.
- [16] LIAO X L, YAN J N, WANG B, et al. Identification of key odorants responsible for cooked corn-like aroma of green teas made by tea cultivar 'Zhonghuang 1' [J]. Food Research International, 2020, 136: 109355.
- [17] 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.
- [18] ZHU J C, NIU Y W, XIAO Z B. Characterization of the key aroma compounds in Laoshan green teas by application of odour activity value (OAV), gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry (GC-MS-O) and comprehensive two-dimensional gas chromatography mass spectrometry (GCxGC-qMS)[J]. Food Chemistry, 2021, 339: 128136.
- [19] KANG S Y, YAN H, ZHU Y, et al. Identification and quantification of key odorants in the world's four most famous black teas[J]. Food Research International, 2019, 121: 73-83.
- [20] LÜ H P, ZHONG Q S, LIN Z, et al. Aroma characterization of Pu-erh tea using headspace-solid phase microextraction combined with GC/MS and GC-olfactometry[J]. Food Chemistry, 2012, 130(4): 1074-1081.
- [21] 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.
- XIAO L, MAO S H, TONG H R. Analysis of volatile components of three types of fenghuang Dancong Tea [J]. Food Science, 2018, 39(20): 233-239.
- [22] ZHU Y, LV H P, DAI W D, et al. Separation of aroma components in Xihu Longjing tea using simultaneous distillation extraction with comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry [J]. Separation and Purification Technology, 2016, 164: 146-154.
- [23] ZHU Y, LV H P, SHAO, C Y, et al. Identification of key odorants responsible for chestnut-like aroma quality of green teas[J]. Food Research International, 2018, 108: 74-82.
- [24] 阿基业, 何骏, 孙润彬. 代谢组学数据处理-主成分分析十个要点问题[J]. 药学报, 2018, 53(6): 929-937.
- A J Y, HE J, SUN R B. Multivariate statistical analysis for metabolomic data: the key points in principal component analysis[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2018, 53(6): 929-937.
- [25] 刘彬球, 陈孝权, 吴晓刚, 等. PCA和PLS-DA用于晒青毛茶级别分类研究[J]. 茶叶科学, 2015, 35(2): 179-184.
- LIU B Q, CHEN X Q, WU X G, et al. Study of Pu'er raw materials grade classification by PCA and PLS-DA[J]. Journal of Tea Science, 2015, 35(2): 179-184.
- [26] 张悦, 朱荫, 叶火香, 等. 不同产地香茶的主要化学成分含量的差异分析[J]. 食品科学, 2017, 38(22): 184-191.
- ZHANG Y, ZHU Y, YE H X, et al. Comparative study on the contents of the major chemical constituents of fragrant tea from different producing areas[J]. Food Science, 2017, 38(22): 184-191.
- [27] ZHONG J Y, CHEN N, HUANG S C, et al. Chemical profiling and discrimination of green tea and Pu-erh raw tea based on UPLC-Q-Orbitrap-MS/MS and chemometrics[J]. Food Chemistry, 2020,

- 326; 126760.
- [28] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 48, 293-294, 241-242.
WANG X C. Tea Biochemistry[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003: 48, 293-294, 241-242.
- [29] ZHU J C, CHEN F, WANG L Y, et al. Comparison of aroma-active volatiles in Oolong tea infusions using GC-olfactometry, GC-FPD, and GC-MS[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(34): 7499-7510.
- [30] 鲍忠赞, 董荣建, 邓昭浦, 等. 基于陈茶特征香气成分的绿茶新茶和陈茶鉴定方法的研究[J]. 茶叶科学, 2015, 35(6): 583-588.
BAO Z Z, DONG R J, DENG Z P, et al. The research on method of identifying new green tea and stale green tea based on characteristic aromatic components of stale tea aroma[J]. Journal of Tea Science, 2015, 35(6): 583-588.
- [31] ZHANG H, WANG J J, ZHANG D D, et al. Aged fragrance formed during the post-fermentation process of dark tea at an industrial scale[J]. Food Chemistry, 2021, 342: 128175.
- [32] MAO S H, LU C Q, LI M F, et al. Identification of key aromatic compounds in Congou black tea by PLSR with variable importance of projection scores and gas chromatography-mass spectrometry/gas chromatography-olfactometry[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(14): 5278-5286.
- [33] 苗爱清, 吕海鹏, 孙世利, 等. 乌龙茶香气的 HS-SPME-GC-MS/GC-O 研究[J]. 茶叶科学, 2010, 30(增刊 1): 583-587.
MIAO A Q, LU H P, SUN S L, et al. Aroma components of Oolong Tea by HS-SPME-GC-MS and GC-O[J]. Journal of Tea Science, 2010, 30(supplement 1): 583-587.
- [34] 刘盼盼, 郑鹏程, 王胜鹏, 等. 青砖茶初制、渥堆过程中挥发性风味成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(12): 176-183.
LIU P P, ZHENG P C, WANG S P, et al. Analysis of volatile flavor compounds in Qingzhuan tea during primary and pile fermentation process[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(12): 176-183.
- [35] 韩熠, 洪璠, 朱东来, 等. 应用 GC-MS 和 GC-O 鉴定不同等级洞庭碧螺春茶特征香气成分[J]. 香料香精化妆品, 2018, 46(3): 1-10.
HAN Y, HONG L, ZHU D L, et al. Identification of characteristic aroma components of different grades of Dongting Biluochun tea by GC-MS and GC-O[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2018, 46(3): 1-10.
- [36] 肖作兵, 陈合兴, 牛云蔚, 等. 顶空蒸馏萃取法结合 GC-MS/GC-O 技术分析龙井茶的特征香气成分[J]. 浙江大学学报(理学版), 2015, 42(6): 714-720.
XIAO Z B, CHEN H X, NIU Y W, et al. Identify the characteristic aroma components of Longjing tea by headspace ateam distillation extraction and GC-MS/GC-O[J]. Journal of Zhejiang University (Science Edition), 2015, 42(6): 714-720.
- [37] GUO X Y, HO C T, WAN X C, et al. Changes of volatile compounds and odor profiles in Wuyi rock tea during processing [J]. Food Chemistry, 2021, 341: 128230.

Analysis of Key Differential Aroma-Active Components in New and Aged Dahongpao Oolong Teas Based on HS-SPME-GC-O/MS Technology

Zhang Yue¹, Kang Suyoung¹, Lü Haipeng¹, Guo Li¹, Dai Weidong¹, Zhu Yin^{2*}, Lin Zhi^{1*}
¹Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008
²Key Laboratory of Tea Processing Engineering of Zhejiang Province, Hangzhou 310008)

Abstract Aroma is one of the most important factors to evaluate the quality of tea. In order to systematically analyze the difference of aroma components in new and aged Dahongpao oolong teas, and thus provided a scientific basis for storing Dahongpao teas, headspace-solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) and gas chromatography-olfactometry (GC-O) were mainly used in this study. A total of 185 aroma compounds were identified from new Dahongpao and aged Dahongpao oolong teas by HS-SPME-GC-MS, and 45 aroma-active components were identified by using GC-O method. Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) and non-

parametric test indicated that there were 31 key aroma compounds with statistical differences between the two groups ($P < 0.05$). Whereafter, the key aroma compounds with statistical differences and aroma-active components in new and aged Dahongpao were further investigated by combining the peak areas and aroma intensity (AI). Results showed that the peak areas of 2-acetylfuran, 3,5-dimethyl-2-ethylpyrazine, linalool, phenylethyl alcohol, phenethyl acetate, indole and hexyl hexanoate had the same trend as those of aroma intensity. Therefore, these key differential aroma-active components have important contribution for distinguishing the aroma between the new and aged Dahongpao oolong teas, which present a potential applications in the identification of aged Wuyi rock teas. The results of this study provide some technical references for the scientific evaluation of Dahongpao aroma and the discrimination of "new and aged" teas.

Keywords Dahongpao; aroma-active components; HS-SPME-GC-MS; GC-O; multivariate statistical analysis