

不同干燥方式的 桂热2号红茶香气成分分析及判别

阳景阳,李子平,陆金梅,何文,冯红钰,刘汉焱,徐冬英,梁光志,罗莲凤*

(广西南亚热带农业科学研究所,广西崇左 532415)

摘要:目的:对不同干燥方式的桂热2号红茶主要香气成分进行辨识鉴定,实现对红茶干燥方式的判别。方法:制作桂热2号冷冻干燥(D组)、热风干燥(H组)、日晒干燥(S组)、冻干+热风干燥(DH组)红茶样品,采用固相微萃取-气质联用(SPME-GC-MS)技术鉴定香气成分,结合主成分分析(PCA)和感官审评评价香气特征;结合正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)进行组间差异化分析;结合聚类分析(HCA)进行红茶的干燥方式鉴别。结果:共鉴定出36种香气成分,其中12种成分构成了桂热2号红茶花果甜香的基底;PCA模型得到三个主成分的累积解释率 $R^2X=82.2\%$,咖啡因、橙花醇、芳樟醇等9种成分对成分组的影响较大;OPLS-DA分析对于DH组与H组间模型拟合度较差,其他组间均具有良好的拟合度,D组与DH组差异成分为咖啡因、芳樟醇等,D组与H组为咖啡因、橙花醇等,D组与S组为咖啡因、橙花醇等,DH组与S组间为芳樟醇、橙花醇等,H组与S组间为苯甲醇等;HCA聚类分析结果为除DH组与H组间判别精度不高,其他组间都能实现判别。结论:GC-MS结合PCA、OPLS-DA、HCA分析能基本实现对多种干燥方式红茶的鉴定、区分和判别,综合评价冻干+热风干燥效果最佳。

关键词:桂热2号红茶,干燥,香气成分,主成分分析,正交偏最小二乘判别分析

Analysis and Discrimination of Aroma Compounds of Guire 2 Black Tea Treated with Different Drying Methods

YANG Jing-yang, LI Zi-ping, LU Jin-mei, HE Wen, FENG Hong-yu,

LIU Han-yan, XU Dong-ying, LIANG Guang-zhi, LUO Lian-feng*

(Guangxi South Subtropical Agricultural Science Research Institute, Chongzuo 532415, China)

Abstract: Objective: The mainly different aroma components of Guire 2 black tea treated with different drying methods were identified to determine the drying methods of black tea. Methods: Solid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) was used to identify the aroma components of Guire 2 black tea samples dried by freeze drying (D), hot air drying (H), sun drying (S), freezing + hot air drying (DH). Principal component analysis (PCA) and sensory evaluation were used to analyze the aroma characteristics. Orthogonal signal corrected least squares discriminant analysis (OPLS-DA) was used to analyze the differences between groups. Cluster analysis (HCA) was used to identify the drying methods of black tea. Results: A total of 36 aroma components were identified, among which the relative contents of 12 aroma components were relatively high, which constituted the base of sweet scent of Guire 2 black tea. Three principal components were extracted by PCA (the fraction of the variation of the X variables explained was 82.2%), and the caffeine, nerol, linalool and so on had a greater impact on the component group. The OPLS-DA analysis had a poor fit to the model between DH and H, and the other groups had a good fit. The difference components were caffeine and linalool (D and DH), caffeine and nerol (D and H, D and S), linalool and nerol (DH and S), benzyl alcohol (H and S). The results of HCA cluster analysis showed that the high discrimination could be achieved except DH and H. Conclusions: The aroma components of Guire 2 black tea could be identified and classified by GC-MS combined with PCA, OPLS-DA and HCA. A comprehensive evaluation indicated that freezing + hot air drying showed the best effect.

Key words: Guire 2 black tea; drying method; aroma component; principal component analysis (PCA); orthogonal partial least squares discrimination analysis (OPLS-DA)

中图分类号: TS272

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)16-0067-08

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.16.012

收稿日期: 2019-09-20

作者简介: 阳景阳(1990-),男,硕士研究生,研究实习员,研究方向:茶叶栽培与加工技术, E-mail: 297449589@qq.com。

*通讯作者: 罗莲凤(1980-),女,硕士研究生,高级农艺师,研究方向:茶叶栽培与加工技术, E-mail: roxi88@163.com。

基金项目: 广西区直属公益性科研院所基本科研业务费专项项目(GXNYRKS201901)。

引文格式:阳景阳,李子平,陆金梅,等.不同干燥方式的桂热2号红茶香气成分分析及判别[J].食品工业科技,2020,41(16):67-73,87.

桂热2号茶树品种为广西南亚热带农业科学研究所从凌云白毫群体种中采用单株选择-无性繁殖方法选育的优良品种,品种登记号为(桂)登(茶)2006010^[1]。该品种属于乔木大叶种,芽叶肥壮内含物丰富,具备制作优质红茶的基础。以桂热2号为原料研制的红茶品质优异,以其独特持久的甜毫香,深受消费者喜爱。

香气是决定红茶品质的重要因子。红茶在干燥过程中挥发低沸点青味物质,激化保留高沸点芳香物质^[2-3],随着芳香物质的转化、生成与损失,氨基酸与糖类经过美拉德(Maillard-Reaction)反应,产生大量的吡咯类、呋喃类、吡嗪类化合物等芳香物质,从而形成红茶的香气特征^[4]。传统红茶干燥通常以常压热风干燥、日晒干燥为主,随着科技的发展真空冷冻干燥、微波干燥等多种干燥方式也逐渐兴起^[5]。热风干燥和微波干燥通过高温钝化酶活性,终止发酵过程,而冷冻干燥与日晒干燥温度相对较低,未失活的酶可以继续参与后发酵过程^[6]。研究人员对不同干燥方法对本地区红茶香气的影响开展了研究,任洪涛等^[4]研究了云南大叶种红茶进行热风干燥后的香气物质变化。高明珠^[7]运用真空冷冻干燥与常压热风干燥结合的真空脉动干燥技术制作工夫红茶,此方法相较于一般冷冻干燥,更有利于茶叶香气的形成。叶飞等^[2]以福鼎大白鲜叶为原料,比较热风干燥和滚炒干燥处理对宜红茶品质影响,热风干燥处理宜红茶的甜香型香气成分相对较多。仇方方等^[8]对宜红茶运用热风、远红外、微波、光波、微波+光波五种提香方式,所有提香后茶叶中芳樟醇、苯甲醇等部分物质含量下降,苯甲醛、(E)- β -紫罗酮、反式-橙花叔醇等物质含量升高,同时还出现吡嗪、嘧啶等具有烘烤香的杂环化合物,芳香物质的变化利于茶叶甜香风味的形成。

吕世懂等^[9]分析云南3种晒青红茶和3种烘青红茶的香气成分,并利用主成分分析(principal component analysis, PCA)和聚类分析(clustering analysis, CA)找出这2种不同干燥方式红茶的异同点,但不能判定高温干燥的烘青红茶比晒青红茶香气更丰富。Fang等^[10]结合GC-MS数据和PCA、逐步线性判别分析(stepwise linear discriminant analysis, SLDA)成功判定鉴别了祁门红茶的地理源头。此外,还有研究人员通过统计学方法探索了不同干燥方式的绿茶^[11-17]、普洱茶^[18-19]等茶类的香气优缺点。同时,PCA、正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discrimination analysis, OPLS-DA)和聚类分析(Hierarchical Cluster Analysis, HCA)等统计学方法还被广泛运用于食品^[20-21]、药材^[22-25]、饮料^[26-27]、工业材料^[28-29]等的图谱分析中。目前,通过PCA、OPLS-DA、HCA等方法研究香气品质的技术已得到一定应用,可为茶叶香气的研究提供理论参考。

目前对桂热2号红茶的工艺已有研究^[30-31],为了进一步明确不同干燥方式对桂热2号红茶香气的影

响,本文运用SPME-GC-MS技术对热风干燥、真空冷冻干燥、日晒干燥、冻干+热风干燥四种干燥方式桂热2号红茶香气成分进行检测,利用PCA、OPLS-DA、HCA方法进行建模分析,探明不同干燥方式桂热2号红茶的香气特征,确定差异香气成分,实现干燥方式判别,为进一步开发研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

桂热2号鲜叶 广西南亚热带农业科学研究所名优茶叶种植基地(制茶试验于2018年4~10月在广西南亚热带农业科学研究所名优茶厂进行);癸酸乙酯 美国Sigma-Aldrich;NaCl 国药集团化学试剂有限公司。

6CWD-6型茶叶萎凋槽 南宁市创宇茶叶机械有限公司;6CR-35型揉捻机、YX-6CFJ-10B型全自动红茶发酵机 福建安溪永兴茶叶机械厂;DW-86L388J超低温冰箱 青岛海尔特种电器有限公司;ZDG-10型真空冷冻干燥机 广东永利机械设备有限公司;6CTH型烘干机 浙江上洋机械有限公司;茶叶水分测定仪、固相微萃取手动SPME进样手柄、50/30 μm DVB/CAR/PDMS固相微萃取头 美国Supelco公司;7890A-5975C型气相-质谱联用仪 美国Agilent公司。

1.2 实验方法

1.2.1 制茶方法 将新鲜采摘的桂热2号鲜叶放入萎凋槽内萎凋处理20 h(摊叶厚度1 cm,设置温度25 $^{\circ}\text{C}$,湿度70%);将萎凋叶放入揉捻机空压10 min、轻压20 min、重压10 min、松压5 min制成揉捻叶;揉捻叶放入智能红茶发酵机发酵3 h,摊叶厚度10 cm,发酵叶温度35 $^{\circ}\text{C}$,发酵湿度90%^[31];将发酵叶进行理条15 min后采用四种干燥方法(热风/冻干/日晒/冻干+热风)进行干燥;干燥叶经过除杂、拣剔等精制过程制成桂热2号红茶样品。

1.2.2 干燥方法

1.2.2.1 热风干燥(H组) 将发酵叶平摊至烘干架上,摊叶厚度0.2~0.8 cm,放入烘干机内,温度65~75 $^{\circ}\text{C}$,烘干时间2~3 h,温度95~100 $^{\circ}\text{C}$,烘干时间15~45 min,至茶叶含水率7%以下^[31]。

1.2.2.2 真空冷冻干燥(D组) 将发酵叶装入封口袋中,放入超低温冰箱冷冻6 h,待冻实后取出放入冷冻干燥机;主冻干真空度0.8 mbar,温度-22 $^{\circ}\text{C}$,时间6~8 h;后冻干真空度0.05 mbar,温度-38 $^{\circ}\text{C}$,时间2~3 h;至茶叶含水率7%以下^[32]。

1.2.2.3 日晒干燥(S组) 将发酵叶平摊在摊青布上,放在阳光直射的地方晒干(2~3 d),地表温度40~50 $^{\circ}\text{C}$,至含水率7%以下^[9]。

1.2.2.4 冻干-热风干燥(DH组) 将发酵叶装入封口袋中,放入超低温冰箱设-50 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻6 h,待冻实后取出放入冷冻干燥机;冻干真空度0.8 mbar,温度-22 $^{\circ}\text{C}$,时间6~8 h,含水率10%~15%取出;将茶样

平摊至烘干架上,摊叶厚度 0.2~0.8 cm,放入烘干机中,温度 95~100 ℃,烘干时间 15~45 min,至茶叶含水率 7% 以下。

1.2.3 感官审评方法 感官审评参照茶叶感官审评方法 GB/T 23776-2018^[33],邀请 5 名具备专业资格的评茶员对茶样进行密码审评。采用柱形杯审评法,取 3.0 g 茶样,茶水比 1: 50 g/mL,置于相应评茶杯中,注满沸水、加盖计时 5 min,依次等速滤出茶汤,叶底留于杯中,按外形、汤色、香气、滋味、叶底顺序逐项审评打分,将单项因子得分与该因子评分系数相乘,并将各个乘积值相加,即为该茶样审评总分。

1.2.4 SPME 提取 采用固相微萃取 (Solid-phase micro-extraction, SPME) 方法提取茶叶香气物质,根据 GB/T 8303-2013《茶磨碎试样的制备及其干物质含量测定》^[29] 中的紧压茶试样制备法,取出粉末茶样,混匀、磨碎,然后称取 1 g 茶样放入萃取瓶中,萃取温度 120 ℃,保温 20 min,吸附时间 3 min。SPME 进样针: 50/30 μm DVB/CAR/PDMS (Dibinylbenzene/Carboxen/polydimethylsiloxane)

1.2.5 GC-MS 条件 色谱条件: 色谱柱 Agilent (60 m × 250 μm × 0.25 μm); 进样口温度 270 ℃; 升温程序: 40 ℃ (保持 5 min), 以 15 ℃/min 升温至 280 ℃ (保持 5 min), 以 15 ℃/min 升温至 305 ℃ (保持 5 min); 分流比 10: 1, 流速 2.0 ml/min。质谱条件: SCAN 扫描范围: 29~550 m/z。

1.3 数据处理

由 GC-MS 分析得到的质谱数据经计算机在 NIST 标准谱库的检索,依据相关资料对各峰加以确认,鉴定样品中的挥发性香气成分,用峰面积归一法^[34] 分析各组成成分相对含量。对数据于 SIMCA14.1 中进行主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA)、正交信号校正偏最小二乘判别分析 (Orthogonal Partial Least Squares Discrimination Analysis, OPLS-DA) 和聚类分析 (Hierarchical Cluster Analysis, HCA)。

2 结果与分析

2.1 感官审评

红茶审评中香气因子占权重的 25%, 以嫩香、嫩甜香、花果香为最佳^[33], 四个茶样香气因子得分 H ≈

DH > S > D, 见表 1。H (93.0 分) 表现为香气甜毫香明显, DH (93.0 分) 表现为甜毫香浓郁持久, 香气表现较好; 而 D (87.2 分) 和 S (90.4 分) 香气中都带有些青气, 表现较差。外形 DH 为最优, 紧结, 显金毫; 汤色 D、DH 都表现为金黄明亮, 较优; 滋味以 H 表现最好, 有明显回甘, S 表现最差; 叶底 D 表现最好, 肥嫩, 红明亮。综合得分 H ≈ DH > D > S, H 与 DH 为最好 (92.0 分), S 最差 (89.1 分)。

2.2 GC-MS 结果分析

GC-MS 结果经 NIST 标准谱库检索, 对各峰加以确认后用峰面积归一法分析各组成成分相对含量, 剔除匹配度 SI < 80 的香气物质, 结果见表 2。12 个茶样共鉴定出 36 种香气物质, 可鉴定组分的峰占到了总峰面积的 87.13% (D)、86.76% (DH)、86.10% (H)、83.85% (S), 其中醇类 14 种占总峰面积的 33.27% (D)、38.21% (DH)、38.77% (H)、39.60% (S), 含量较高的有芳樟醇 (兰花香)^[35-36]、苯乙醇 (玫瑰花香)、苯甲醇 (芳香味)、橙花醇 (新鲜柑橘香)、橙花叔醇 (甘甜带木香), 对桂热 2 号花果甜香的贡献较大。DH 组芳樟醇含量显著 ($P < 0.05$) 高于 D 组, 说明冻干后面的高温烘干处理有助于芳樟醇的形成。橙花醇是香叶醇的异构体, D 组的橙花醇显著 ($P < 0.05$) 低于 S 和 H 组, 而 D 组橙花叔醇显著 ($P < 0.05$) 高于其他组。醛类鉴定出 8 种, 占总峰面积的 7.09% (D)、8.61% (DH)、9.03% (H)、5.60% (S), 含量最高的是苯乙醛 (果甜香), DH 组显著 ($P < 0.05$) 高于 S 组, 其他组差异不显著。酮类 3 种, 占总峰面积 0.96% (D)、0.96% (DH)、1.33% (H)、0.62% (S), D 组的 β-紫罗兰酮 (木质香气) 显著 ($P < 0.05$) 高于其他组。酸类 1 种, 乙酸 (醋酸味) 相对含量为 0.50% (D)、0.57% (DH)、1.19% (H)、1.19% (S)。酯类 1 种, 水杨酸甲酯 (薄荷香味) 相对含量为 3.33% (D)、4.52% (DH)、3.49% (H)、4.33% (S), 方差分析含量差异不显著。其他类包含氮类、碳氢类、内酯类、杂环类等, 占含量的 41.97% (D)、33.88% (DH)、32.29% (H)、32.51% (S), 其中含氮化合物咖啡因含量 D 组 (32.20%) 显著 ($P < 0.05$) 高于其他组, DH (30.32%) 组显著 ($P < 0.05$) 高于 H 组 (27.87%)。

四组茶样共有的香气成分有 33 种, 占总峰面积

表 1 感官审评结果 (分)

Table 1 Results of sensory quality evaluation (scores)

红茶样品	外形 (25%)	汤色 (10%)	香气 (25%)	滋味 (30%)	叶底 (10%)	总分 (100%)
热风干燥 (H)	紧结, 匀整 (22.7 ± 0.2 ^b)	尚金黄明亮 (9.0 ± 0.2 ^b)	甜毫香明显 (23.3 ± 0.5 ^a)	鲜醇回甘 (28.1 ± 0.4 ^a)	肥嫩, 红亮 (9.0 ± 0 ^b)	92.0 ± 1.3 ^a
冷冻干燥 (D)	紧结, 显毫 (22.9 ± 0.3 ^b)	金黄明亮 (9.2 ± 0.1 ^a)	纯正甜香, 稍带青味 (21.8 ± 0.5 ^c)	醇厚回甘 (27.1 ± 0.3 ^b)	肥嫩, 红明亮 (9.3 ± 0.1 ^a)	90.3 ± 1.3 ^b
日晒干燥 (S)	紧结, 匀整 (22.5 ± 0.3 ^b)	尚金黄明亮 (9.0 ± 0.1 ^b)	甜香带花香, 略带青味 (22.6 ± 0.1 ^b)	尚醇厚 (26.0 ± 0.5 ^c)	肥嫩, 红尚亮 (9.0 ± 0.2 ^b)	89.1 ± 1.1 ^c
冻干-热风干燥 (DH)	紧结, 显金毫 (23.5 ± 0.3 ^a)	金黄明亮 (9.1 ± 0.1 ^{ab})	甜毫香浓郁持久 (23.3 ± 0.4 ^a)	醇厚回甘 (27.7 ± 0.5 ^{ab})	肥嫩, 红亮 (9.2 ± 0.2 ^{ab})	92.0 ± 1.5 ^a

注: 同列不同字母表示差异性显著 ($P < 0.05$)。

表2 四种不同干燥方式的桂热2号红茶香气成分及相对含量(%)

Table 2 Aroma compounds and relative content of four kinds of Guire 2 black tea treated with different drying methods(%)

编号	成分名称	D	DH	H	S
1	顺-2-戊烯醇	0.33 ± 0.03 ^a	0.19 ± 0.06 ^b	0.13 ± 0.02 ^b	0.20 ± 0.01 ^b
2	反式-3-己烯-1-醇	0.64 ± 0.07 ^c	0.87 ± 0.21 ^{bc}	0.92 ± 0.06 ^b	1.21 ± 0.12 ^a
3	反式-2-己烯-1-醇	0.36 ± 0.04 ^a	0.28 ± 0.10 ^a	0.08 ± 0.06 ^b	0.25 ± 0.34 ^a
4	正己醇	0.02 ± 0.02 ^c	—	0.20 ± 0.01 ^b	0.26 ± 0.05 ^a
5	2-庚醇	0.60 ± 0.11 ^a	0.31 ± 0.09 ^b	0.45 ± 0.05 ^{ab}	0.51 ± 0.06 ^a
6	苯甲醇	3.49 ± 0.65 ^{ab}	3.29 ± 0.33 ^b	3.00 ± 0.31 ^b	4.51 ± 0.74 ^a
7	顺- α,α -5-三甲基-5-乙基 四氢化呋喃-2-甲醇	0.83 ± 0.09 ^a	0.67 ± 0.20 ^a	0.45 ± 0.25 ^a	0.51 ± 0.39 ^a
8	芳樟醇	14.84 ± 0.42 ^b	18.75 ± 0.65 ^a	17.06 ± 1.39 ^{ab}	16.78 ± 1.86 ^{ab}
9	苯乙醇	7.29 ± 0.24 ^b	8.55 ± 0.63 ^{ab}	8.80 ± 0.52 ^a	8.64 ± 0.93 ^a
10	2,2,6-三甲基-6-乙基 四氢-2H-呋喃-3-醇	1.18 ± 0.14 ^a	0.56 ± 0.27 ^{bc}	0.89 ± 0.14 ^{ab}	0.42 ± 0.14 ^c
11	橙花醇	0.44 ± 0.25 ^b	2.32 ± 0.73 ^{ab}	4.75 ± 2.97 ^a	3.83 ± 0.25 ^a
12	橙花叔醇	2.60 ± 0.18 ^a	1.67 ± 0.48 ^{bc}	1.08 ± 0.11 ^c	1.87 ± 0.36 ^b
13	叶绿醇	0.35 ± 0.20 ^{ab}	0.24 ± 0.19 ^{ab}	0.41 ± 0.06 ^a	0.08 ± 0.08 ^b
14	植物醇	0.30 ± 0.08 ^b	0.51 ± 0.09 ^{ab}	0.55 ± 0.17 ^a	0.53 ± 0.07 ^a
15	异丁醛	0.60 ± 0.06 ^{ab}	0.74 ± 0.12 ^a	0.83 ± 0.15 ^a	0.45 ± 0.14 ^b
16	异戊醛	0.88 ± 0.46 ^b	1.20 ± 0.13 ^b	1.74 ± 0.41 ^a	1.09 ± 0.13 ^b
17	2-甲基丁醛	1.64 ± 0.04 ^a	1.70 ± 0.40 ^a	1.67 ± 0.26 ^a	0.96 ± 0.06 ^b
18	正己醛	0.85 ± 0.07 ^a	0.55 ± 0.33 ^{ab}	0.56 ± 0.28 ^{ab}	0.34 ± 0.00 ^b
19	糠醛	0.12 ± 0.03 ^{ab}	0.13 ± 0.16 ^{ab}	0.24 ± 0.10 ^a	0.02 ± 0.03 ^b
20	苯甲醛	1.23 ± 0.11 ^a	0.89 ± 0.05 ^b	0.79 ± 0.17 ^b	0.45 ± 0.10 ^c
21	苯乙醛	1.46 ± 0.21 ^{bc}	2.08 ± 0.29 ^a	1.98 ± 0.43 ^{ab}	0.91 ± 0.17 ^c
22	1-乙基-1H-吡咯-2-甲醛	0.31 ± 0.06 ^b	1.32 ± 0.34 ^a	1.22 ± 0.19 ^a	1.38 ± 0.30 ^a
23	3,4-二甲基-2,5-二氢-1H-吡咯-2-酮	0.33 ± 0.18 ^b	0.85 ± 0.26 ^a	1.12 ± 0.13 ^a	—
24	茉莉酮	0.15 ± 0.00 ^b	0.10 ± 0.09 ^b	0.14 ± 0.13 ^b	0.54 ± 0.28 ^a
25	β -紫罗兰酮	0.48 ± 0.18 ^a	0.01 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.11 ^b	0.08 ± 0.14 ^b
26	乙酸	0.50 ± 0.08 ^b	0.57 ± 0.32 ^b	1.19 ± 0.40 ^a	1.19 ± 0.15 ^a
27	水杨酸甲酯	3.33 ± 0.18 ^a	4.52 ± 1.40 ^a	3.49 ± 0.26 ^a	4.33 ± 0.23 ^a
28	β -蒎烯	0.38 ± 0.05 ^a	0.18 ± 0.17 ^b	0.07 ± 0.12 ^{ab}	—
29	2,6,11-三甲基十二烷	0.43 ± 0.10 ^{ab}	0.83 ± 0.19 ^a	0.78 ± 0.50 ^a	0.07 ± 0.12 ^b
30	2-乙基呋喃	0.33 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.11 ^b	0.19 ± 0.07 ^{ab}	0.08 ± 0.07 ^b
31	2-甲基吡嗪	0.25 ± 0.02 ^a	0.04 ± 0.05 ^b	0.09 ± 0.08 ^b	0.12 ± 0.10 ^{ab}
32	2-乙酰基吡咯	0.30 ± 0.11 ^b	0.52 ± 0.09 ^a	0.50 ± 0.13 ^{ab}	0.49 ± 0.04 ^{ab}
33	2,3-二氢苯并呋喃	0.17 ± 0.06 ^c	0.38 ± 0.04 ^b	0.59 ± 0.09 ^a	0.53 ± 0.13 ^{ab}
34	N-乙基琥珀酰亚胺	0.28 ± 0.06 ^b	0.47 ± 0.08 ^a	0.29 ± 0.07 ^b	0.46 ± 0.10 ^a
35	咖啡因	38.20 ± 0.87 ^a	30.32 ± 1.74 ^b	27.87 ± 1.31 ^c	29.41 ± 0.33 ^{bc}
36	二甲基硫	1.64 ± 0.08 ^{ab}	1.04 ± 0.21 ^c	1.91 ± 0.18 ^a	1.35 ± 0.43 ^{bc}

注:各组分的相对含量以 $\bar{X} \pm S$ 表示,“—”表示未检出;使用 SPSS 19.0 单因素 ANOVA 比较均值,同一行差异显著性以小写字母表示,显著性水平 $P < 0.05$ 。

1%以上的有咖啡因、芳樟醇、苯乙醇、水杨酸甲酯、苯甲醇、2-甲基丁醛、苯乙醛、橙花叔醇、橙花醇、二甲基硫、异戊醛、1-乙基-1H-吡咯-2-甲醛,这些香气成分之和占到了总峰面积的 76.12% (D)、76.76% (DH)、74.57% (H)、75.06% (S),说明上述物质构成了桂热2号红茶的甜香的香气基调。

2.3 PCA 分析

主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)是一种通过降维方式提取有效信息的多变量统计方

法,能在最大程度保留数据原始信息的基础上,在低维度内,找出变量间的关系,对样品加以区分^[37-38]。将 12 个红茶样品(编号: D1~D3、DH1~DH3、H1~H3、S1~S3)的 GC-MS 数据构成 12×36 的矩阵,对数据采取帕累托标度化(Pareto scaling, Par)后进行主成分分析拟合主成分得分图如图 1。模拟生成 3 个主成分,在 95% 的置信区间内,第 1、第 2 主成分能累积反映 69.5% 的数据信息,累积 $Q^2 = 0.48$;第 1、2、3 主成分能累积反映 82.2% 的数据信息,累积 $Q^2 =$

表3 香气成分的主成分载荷矩阵

Table 3 Loading matrix of principal components of aroma

名称	主成分一	主成分二	主成分三	名称	主成分一	主成分二	主成分三
二甲基硫	0.017	-0.026	-0.354	1-乙基-1H-吡咯-2-甲醛	-0.197	-0.008	0.155
异丁醛	-0.036	0.161	-0.086	2-乙酰基吡咯	-0.071	-0.019	0.024
乙酸	-0.142	-0.141	-0.173	顺- α,α -5-三甲基-5-乙烯基 四氢化呋喃-2-甲醇	0.096	0.091	0.163
异戊醛	-0.14	0.142	-0.164	芳樟醇	-0.283	0.340	0.467
2-甲基丁醛	0.042	0.254	-0.079	3,4-二甲基-2,5-二氢- 1H-吡咯-2-酮	-0.086	0.307	-0.145
2-乙基呋喃	0.077	0.043	-0.101	苯乙醇	-0.207	-0.112	-0.04
正己醛	0.101	0.123	-0.031	N-乙基琥珀酰亚胺	-0.033	-0.027	0.167
糠醛	-0.022	0.13	-0.08	2,2,6-三甲基-6-乙烯基 四氢-2H-呋喃-3-醇	0.114	0.113	-0.235
顺-2-戊烯醇	0.079	-0.023	0.01	水杨酸甲酯	-0.066	-0.098	0.341
2-甲基吡嗪	0.063	-0.03	-0.072	2,3-二氢苯并呋喃	-0.12	-0.018	-0.018
反式-3-己烯-1-醇	-0.106	-0.169	0.029	橙花醇	-0.383	-0.182	-0.43
反式-2-己烯-1-醇	0.082	-0.036	0.097	2,6,11-三甲基十二烷	-0.034	0.318	0.039
正己醇	-0.063	-0.112	-0.044	茉莉酮	-0.032	-0.193	0.051
2-庚醇	0.059	-0.073	-0.064	β -紫罗兰酮	0.128	-0.044	-0.097
苯甲醛	0.134	0.196	-0.018	橙花叔醇	0.217	-0.164	0.149
β -蒎烯	0.098	0.065	-0.054	叶绿醇	0.02	0.115	-0.135
苯甲醇	0.005	-0.37	0.163	咖啡因	0.661	-0.013	-0.045
苯乙醛	-0.052	0.369	-0.025	植物醇	-0.091	-0.046	-0.053

0.49,表示模型解释度高,预测能力较好。得分图能反映各独立样本间的差别,图1中H组与DH组主要分布于第一四象限,S组分布于第四象限,D组分布于第二三象限,除DH组与H组间较为相近外,其他试验组间都能实现较好的区分。

载荷因子是PCA分析中重要变量贡献的集合,反映了各香气物质对主成分负荷的相对大小和作用方向,可以显示具体变量对主成分的贡献情况^[20],正系数大代表该香气物质对主成分正向的贡献大,反系数大代表该香气物质对主成分反向的贡献大。在第一主成分中,咖啡因(0.661)具有较大的正系数值,橙花醇(-0.383)具有较大的负系数值;第二主成分中苯乙醇(0.369)、芳樟醇(0.340)、2,6,11-三甲基十二烷(0.318)、3,4-二甲基-2,5-二氢-1H-吡咯-2-酮(0.307)具有较大的正系数值,苯甲醇(-0.37)具有较大的负系数值;第三主成分中芳樟醇(0.467)、水杨酸甲酯(0.341)具有较大的正系数值,橙花醇(-0.43)、二甲基硫(-0.354)具有较大的负系数值。

2.4 OPLS-DA 分析

正交信号校正偏最小二乘判别分析(Orthogonal Partial Least Squares Discrimination Analysis, OPLS-DA)是一种有监督的判别分析统计方法,用于建立物质表达量与样品类别间的关系模型^[39]。对各组香气成分数据采取帕累托标度化(Pareto scaling, Par)后进行OPLS-DA分析,拟合S-plot图见图2,选取位于S-plot两端并且变量投影重要度(Variable Importance for the Projection, VIP)预测值>1的点为两组间的差异成分,各组间VIP预测值分布见图3。

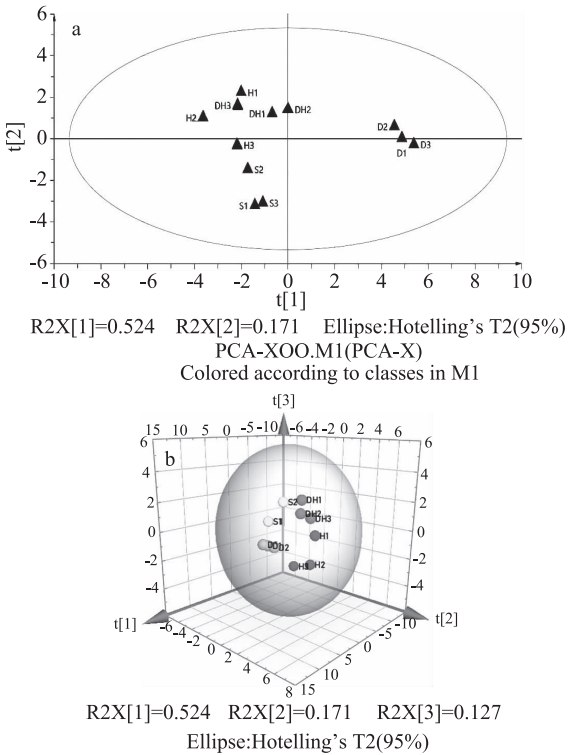


图1 PCA分析散点图

Fig.1 PCA of samples distribution scatter plots

注:a:二维分布图;b:三维分布图。

所有组间在假设验证次数为200次的前提下,除D组与DH组组间以外,所有模型的累计方差 R^2_{cum} 与累计交叉有效性 Q^2_{cum} 值都低于最右侧的值,且回归线斜率>1,说明模型拟合良好。

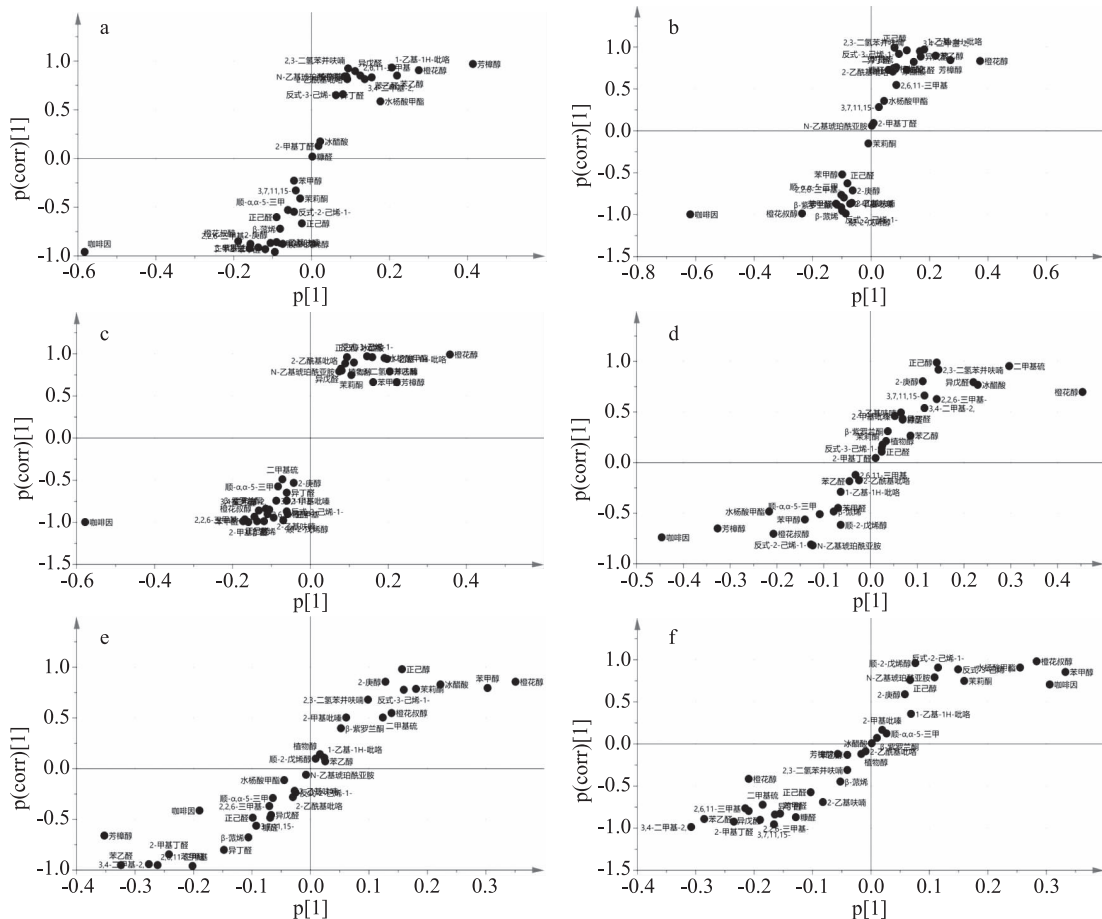


图 2 组间 S-plot

Fig.2 S-plot between groups

注:a;D组与DH组;b;D组与H组;c;D组与S组;d;DH组与H组;e;DH组与S组;f;H组与S组

D 组与 DH 组间 $R^2_{\text{cum}} = 0.972$, $Q^2_{\text{cum}} = 0.997$, D 组与 DH 组之间能很好的区分, 进行 VIP 预测得到两组的 VIP 预测值分布如图 3, VIP 值 > 1 的变量有: 咖啡因 (3.50)、芳樟醇 (2.48)、橙花醇 (1.66)、苯乙醇 (1.31)、1-乙基-1H-吡咯-2-甲醛 (1.23)、橙花叔醇 (1.13)、水杨酸甲酯 (1.06), 为 D 组与 DH 组间的差异成分。D 组与 H 组, 组间 $R^2_{\text{cum}} = 0.856$, $Q^2_{\text{cum}} = 0.958$, D 组与 H 组间能很好区分, VIP 值 > 1 的变量有咖啡因 (3.71)、橙花醇 (2.24)、芳樟醇 (1.63)、橙花叔醇 (1.41)、苯乙醇 (1.32)、1-乙基-1H-吡咯-2-甲醛 (1.09)、异戊醛 (1.01), 为 D 组与 H 组间的差异成分。D 组与 S 组间 $R^2_{\text{cum}} = 0.904$, $Q^2_{\text{cum}} = 0.997$, 组间能很好区分, VIP 值 > 1 的变量有咖啡因 (3.46)、橙花醇 (2.15)、芳樟醇 (1.33)、苯乙醇 (1.22)、1-乙基-1H-吡咯-2-甲醛 (1.17)、水杨酸甲酯 (1.14)、苯甲醛 (1.03), 为 D 组与 S 组间的差异成分。DH 与 H 组间 $R^2_{\text{cum}} = 0.571$, $Q^2_{\text{cum}} = 0.540$, 组间区分度一般, VIP 值 > 1 的变量有橙花醇 (2.71)、咖啡因 (2.67)、芳樟醇 (1.96)、二甲基硫 (1.78)、冰醋酸 (1.39)、异戊醛 (1.32)、水杨酸甲酯 (1.30)、橙花叔醇 (1.24), 为 DH 组与 H 组的差异成分。DH 组与 S 组间 $R^2_{\text{cum}} = 0.922$, $Q^2_{\text{cum}} = 0.992$, 组间能很好区分, VIP 值 > 1 的变量有芳樟醇 (2.11)、橙花醇 (2.10)、苯乙醛 (1.95)、苯甲醇 (1.82)、3,4-二甲基-2,5-二氢-1H-吡咯-2-酮

(1.66)、2,6,11-三甲基十二烷(1.57)、2-甲基丁醛(1.46)、冰醋酸(1.33)、苯甲醛(1.21)、咖啡因(1.14)、茉莉酮(1.08),为DH组与S组的差异成分。H组与S组间 $R^2_{\text{cum}} = 0.968$, $Q^2_{\text{cum}} = 0.992$,组间能很好区分,VIP值>1的变量有苯甲醇(2.00)、3,4-二甲基-2,5-二氢-1H-吡咯-2-酮(1.85)、咖啡因(1.83)、苯乙醛(1.71)、橙花叔醇(1.70)、水杨酸甲酯(1.53)、2-甲基丁醛(1.41)、2,6,11-三甲基十二烷(1.29)、异戊醛(1.26)、2,2,6-三甲基-6-乙基四氢-2H-咪喃(1.14)、二甲基硫(1.11),为H组与S组的差异成分。

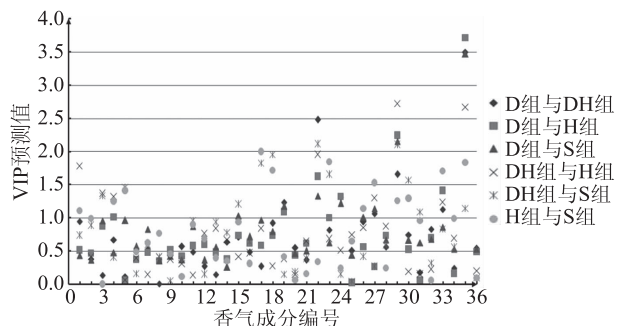


图3 组间VIP预测值分布散点图

Fig.3 VIP predictive scatter diagram between groups

2.5 HCA 分析

将 12 个红茶样品的 GC-MS 数据进行聚类分析

(Hierarchical Cluster Analysis, HCA), 如图 4 所示, 在距离为 6.23 处可将茶样分为 4 类, 第一类包括 D1、D2、D3, 第二类包括 S1、S2、S3, 第三类包括 H2、H3, 第四类包括 DH1、DH2、DH3 及 H1, 除 H 组与 DH 组有部分难以区分外, 其他组别间都实现了较好的区分度, 分聚在不同类别。结果表明, 聚类分析能有效通过香气成分对不同干燥方式的桂热 2 号红茶进行分类, 但对都经过 95℃ 以上加温的热风干燥组与冻干 + 热风组分类精度不高。

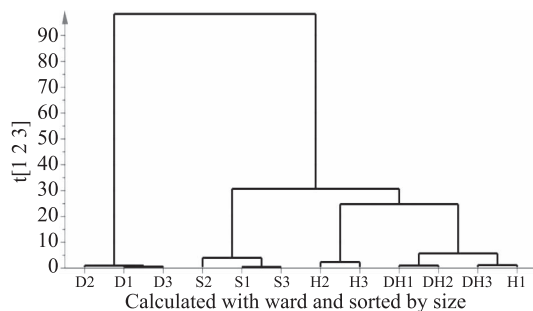


图 4 不同干燥方式红茶 HCA 聚类分析图

Fig.4 HCA analytical diagram of black tea with different drying methods

3 结论

四种干燥方式的桂热 2 号红茶共鉴定出 36 种香气物质, 其中咖啡因、芳樟醇、苯乙醇、水杨酸甲酯、苯甲醇、2-甲基丁醛、苯乙醛、橙花叔醇、橙花醇、二甲基硫、异戊醛、1-乙基-1H-吡咯-2-甲醛等是主要呈香物质, 构成了桂热 2 号花果甜香的基础。

PCA 能较好的通过香气成分数据区分桂热 2 号红茶的干燥方式, 其中真空冷冻干燥、日晒干燥、热风干燥间的区分度较高(数据点分布表现为组内紧凑, 组间离散), 热风干燥与冻干 + 热风干燥的区分度较低, 原因可能是在茶叶含水率 > 15% 时都经过了 90℃ 以上热风加温, 高温产生了同类型香气成分。HCA 分析也呈现了相似的状况, 热风干燥组与冻干 + 热风干燥组分类精度不高, 其他组别分类情况良好。在 OPLS-DA 分析中, 除 H 组与 DH 组外, 各组间均能很好的区分($R^2_{\text{cum}} > 0.5$ 、 $Q^2_{\text{cum}} > 0.9$), 在假设验证次数为 200 时, R^2 与 Q^2 的回归线斜率 > 1, 模型拟合良好。以 VIP 预测值 > 1 为标准, D 组与 DH 组间差异成分为咖啡因、芳樟醇等, D 组与 H 组间差异成分为咖啡因、橙花醇等, DH 组与 S 组间差异成分为橙花醇、苯乙醛等, H 组与 S 组间差异成分为苯甲醇、3,4-二甲基-2,5-二氢-1H-吡咯-2-酮等。说明随着干燥温度的升高, 香气成分中咖啡因等含量降低, 芳樟醇、橙花醇等呈现花果香的物质含量升高, 花果甜香显现, 青气逐渐消失, 这与感官审评的结果吻合。热风干燥与冻干 + 热风干燥在红茶香气评分显著高于冷冻干燥与日晒干燥, 其中冻干 + 热风干燥方式的茶香更为持久, 综合评价最好。

GC-MS 结合 PCA、OPLS-DA、HCA 分析能实现对多种干燥方式红茶的区分和聚类, 差异成分的香气特质与感官审评香气评价相吻合, 干燥过程中温

度 > 95℃, 香气成分中咖啡因等含量降低, 芳樟醇、橙花醇等呈现花果香的物质含量升高, 花果甜香显现, 青气逐渐消失。本研究对红茶的干燥技术改进具有一定的参考价值, 但是针对多种方式相结合的干燥方法的应用与精确判别还需深入研究。

参考文献

- [1] 罗莲凤, 马仙花, 梁光志, 等. 不同加工工艺对桂热 2 号白茶品质的影响[J]. 南方农业学报, 2012, 43(6): 847-850.
- [2] 叶飞, 高士伟, 龚自明, 等. 干燥工艺对宜红茶品质及抗氧化能力的影响[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2018, 44(6): 678-682.
- [3] 古能平. 红茶加工过程中干燥工艺对其主要挥发性物质的影响[J]. 食品工业, 2018, 39(10): 78-81.
- [4] 任洪涛, 周斌, 方林江, 等. 云南红茶加工过程中香气成分的变化[J]. 食品与发酵工业, 2013(3): 187-191.
- [5] 陈泉宾, 王秀萍, 邹龄盛, 等. 干燥技术对茶叶品质影响研究进展[J]. 茶叶科学技术, 2014(3): 1-5.
- [6] Kumar R S S, Murugesan S, Kottur G, et al. Black tea: The plants, processing/manufacturing and production [J]. Tea in Health and Disease Prevention, 2013: 41-57.
- [7] 高明珠. 工夫红茶真空脉动干燥工艺研究[D]. 杭州: 中国农业科学院, 2016.
- [8] 仇方方, 曾维超, 曲凤凤, 等. 提香方式对工夫红茶品质的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 82-87.
- [9] 吕世懂, 吴远双, 王晨, 等. 云南晒青红茶与烘青红茶香气成分对比[J]. 食品科学, 2016, 37(14): 62-67.
- [10] Fang Shimao, Ning Jingming, Huang Wenjing, et al. Identification of geographical origin of Keemun black tea based on its volatile composition coupled with multivariate statistical analyses. [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(9): 4344-4352.
- [11] 魏巍. 不同干燥技术对绿茶品质影响的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2009.
- [12] 刘晓东, 刘玉芳, 杨春, 等. 低温真空干燥方法对名优绿茶色泽的影响[J]. 广东农业科学, 2011(12): 96-97.
- [13] 苏小琴, 左小博, 杨秀芳, 等. 绿茶低温负压干燥工艺优化研究[J]. 保鲜与加工, 2019, 19(3): 97-103.
- [14] Okubo T. Sedimentation and drying dissipative structures of green tea [J]. Colloid & Polymer Science, 2006, 285(3): 331-337.
- [15] 袁海波, 滑金杰, 邓余良, 等. 原料茶干燥工艺对绿茶饮料品质的影响[J]. 茶叶科学, 2017, 37(6): 631-637.
- [16] 杨丽娜, 过尘杰, 洪婵莹. 不同干燥方式对薮北种绿茶感官品质的影响[J]. 科技创新导报, 2017, 14(21): 67-68.
- [17] Shi Jiang, Xie Dongchao, Qi Dandan, et al. Methyl jasmonate-induced changes of flavor profiles during the processing of green, oolong, and black tea[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 781.
- [18] 曾敏, 龚正礼. 基于主成分分析法构建云南古树普洱生茶香气质量评价模型[J]. 食品工业科技, 2017, (15): 264-269.
- [19] 刘彬球, 陈孝权, 吴晓刚, 等. PCA 和 PLS-DA 用于晒青

