

基于电子鼻和HS-SPME-GC-MS分析蒸汽爆破对杜仲嫩叶和成熟叶茶香气特征的影响

周昀菲^{1,2}, 孙志强^{1,3}, 杜庆鑫^{1,3}, 王志勇^{1,3}, 王璐^{1,3}, 杜红岩^{1,3}, 杜兰英^{1,3,*}

(1.中国林业科学研究院经济林研究所, 河南 郑州 450003; 2.南京林业大学林学院, 江苏 南京 210037; 3.经济林种质创新与利用国家林业和草原局重点实验室, 国家林业草原杜仲工程技术研究中心, 河南 郑州 450003)

摘要: 为探究蒸汽爆破(汽爆)辅助加工制成杜仲叶茶的挥发性成分差异和主要呈香特征, 以杜仲‘华仲8号’嫩叶和成熟叶为对象, 采用汽爆技术对杜仲叶进行处理, 基于电子鼻和顶空固相微萃取-气相色谱-质谱(headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)联用法解析汽爆对两种杜仲茶香气特征的影响。主成分分析和线性判别分析对电子鼻数据模型拟合度高, 杜仲嫩叶和成熟叶茶汽爆前后香气特征均存在显著差异。HS-SPME-GC-MS检测共鉴定出177种挥发性成分, 通过正交偏最小二乘判别分析(变量重要性投影值 ≥ 1)以及Kruskal-Wallis H检验($P < 0.05$)进一步筛选出24种香气物质, 发现汽爆前嫩叶茶关键香气物质为二氢猕猴桃内酯。汽爆后嫩叶茶关键呈香物质在此基础上增加了壬醛、苯甲醛和苯乙醛, 呈现柑橘香、花香、焦糖香、苦杏仁味、坚果香、玫瑰香和巧克力香。汽爆前成熟叶茶无关键香气物质, 汽爆后成熟叶茶关键香气物质为二氢猕猴桃内酯和壬醛, 呈现甜桃香、木香、柑橘香、花香和焦糖香。研究结果可为开发杜仲叶茶饮品提供参考依据。

关键词: 杜仲‘华仲8号’; 香气成分; 蒸汽爆破; 杜仲茶

Effect of Steam Explosion on the Aroma Characteristics of Tea Produced from Tender and Mature Leaves of *Eucommia ulmoides* Analyzed Using Electronic Nose and Headspace Solid-Phase Microextraction Combined with Gas Chromatography-Mass Spectrometry

ZHOU Yunfei^{1,2}, SUN Zhiqiang^{1,3}, DU Qingxin^{1,3}, WANG Zhiyong^{1,3}, WANG Lu^{1,3}, DU Hongyan^{1,3}, DU Lanying^{1,3,*}

(1. Research Institute of Non-timber Forestry, Chinese Academy of Forestry, Zhengzhou 450003, China;

2. College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China;

3. Key Laboratory of Non-timber Forest Germplasm Enhancement & Utilization of State Forestry and Grassland Administration, *Eucommia* Engineering Research Center of State Forestry and Grassland Administration, Zhengzhou 450003, China)

Abstract: In order to investigate the differences in volatile components and major aroma characteristics between tea made from tender and mature leaves of *Eucommia ulmoides* pre-treated by steam explosion (SE), an electronic nose (E-nose) and headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) were applied to analyze the effect of SE on the volatile components in tea made from tender and mature leaves of the *Eucommia ulmoides* cultivar ‘Huazhong 8’. The results showed that the principal component analysis (PCA) and linear discriminant analysis (LDA) models fitted well the E-nose data, which suggested that the aroma characteristics of both tender and mature leaf tea were significantly different between with and without SE pretreatment. Altogether, 177 volatile components were identified by HS-SPME-GC-MS, among which 24 were selected as aroma active substances by orthogonal partial least squares discriminant analysis (variable importance in the projection (VIP) value ≥ 1) and Kruskal-Wallis H test ($P < 0.05$). The key aroma substance of tender leaf tea without SE was dihydroactinidiolide. The key aroma substances of tender leaf tea with SE were dihydroactinidiolide, nonanal, benzaldehyde and phenylacetaldehyde, contributing to citrus-like, flowery,

收稿日期: 2023-05-19

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(CAFYBB2022MB003); 郑州市基础研究及应用基础研究专项
第一作者简介: 周昀菲(1998—)(ORCID: 0009-0002-8471-2285), 女, 硕士研究生, 研究方向为杜仲有效成分利用。

E-mail: 1255623163@qq.com

*通信作者简介: 杜兰英(1965—)(ORCID: 0009-0009-7372-8485), 女, 副研究员, 硕士, 研究方向为经济林学。

E-mail: dly371@126.com

caramelic, bitter almond-like, nutty, rose-like and chocolate-like aromas. No key aroma substances were found in mature leaf tea without SE, while dihydroactinidiolide and nonanal were identified the key aroma substances in mature leaf tea with SE, contributing to sweet peach-like, woody, citrus-like, flowery and caramelic aromas. The results of this study can provide a reference for the development of beverage products based on *Eucommia ulmoides* leaves.

Keywords: *Eucommia ulmoides* ‘Huazhong 8’; aroma composition; steam explosion; *Eucommia ulmoides* tea

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230519-193

中图分类号: TS272; TS201

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 01-0091-10

引文格式:

周昀菲, 孙志强, 杜庆鑫, 等. 基于电子鼻和HS-SPME-GC-MS分析蒸汽爆破对杜仲嫩叶和成熟叶茶香气特征的影响[J]. 食品科学, 2024, 45(1): 91-100. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230519-193. <http://www.spkx.net.cn>

ZHOU Yunfei, SUN Zhiqiang, DU Qingxin, et al. Effect of steam explosion on the aroma characteristics of tea produced from tender and mature leaves of *Eucommia ulmoides* analyzed using electronic nose and headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2024, 45(1): 91-100. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230519-193. <http://www.spkx.net.cn>

杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv.), 落叶乔木, 雌雄异株, 是传统的名贵中药材, 在我国有两千多年的栽植、药用历史^[1-2]。杜仲叶富含木脂素、环烯醚萜、酚类、类固醇、萜类、类黄酮等活性物质, 具有滋补肝肾、调节血压的保健功能^[3]。近年来, 杜仲叶被广泛用于医药、食品和饲料添加剂等行业, 其中, 杜仲茶是杜仲叶开发利用的典型代表之一^[4]。传统杜仲茶主要由杀青、揉捻、发酵等工艺制作而来^[4-6]。杜仲嫩叶期为3—4月, 成熟期为7—9月, 分别是采摘制茶的两个关键时期。杜仲嫩叶制作的杜仲茶, 茶汤中富含可溶性蛋白质和氨基酸, 色泽明亮度高、浊度低、青草气明显、醇厚感和回甘度较差^[5]。成熟期叶片组织发育完全, 可溶性蛋白质被代谢分解, 多酚类化合物含量达到顶峰, 青涩感减轻, 醇厚感较佳, 有回甘, 但茶汤亮度低、浊度高^[5]。现有的杜仲茶产品主要是通过发酵技术加工而成。发酵工艺是传统茶挥发性物质形成的关键步骤, 例如凌云白毫发酵茶选择同标准的嫩鲜叶进行不同程度的发酵, 所制成的白茶、乌龙茶、黄茶和红茶, 其茶汤香气分别呈清香、橙香、青果香和甜香等^[7]。

挥发性物质一般仅占茶干质量的0.01%左右, 但由于其低阈值和高气味敏感性^[8], 在茶的感官品质上占据着重要地位。加工工艺和采摘季节是影响茶叶香气特征的重要影响因素。热风、真空、日晒、自然干燥以及真空冷冻干燥牛蒡 (*Arctium lappa* L.) 根茶后, 发现干燥方式对牛蒡根茶的挥发性化合物种类和含量上有不同的影响^[9]; 5、7月和9月在同地区采摘的茶叶以同一工艺生产的3种绿茶, 其特征香气成分各有不同^[10]。基于此, 推测不同时期采摘的杜仲叶对蒸汽爆破处理后茶汤香气化合物的响应情况也有不同。

电子鼻是一种模仿人类嗅觉感知-解释-辨别过程的气体传感器阵列, 可以对特定的挥发物做出特殊响应^[11]。在

食品领域有着广泛应用, 例如Tan Juzhong等^[12]利用电子鼻研究了制作工艺和配方对精炼可挥发性化合物的影响, 用于预测制作巧克力最佳的精炼时间及搅拌时间; Yang Xuemei等^[13]利用电子鼻对普洱茶挥发性成分特征进行分析, 用于鉴别不同贮存年限的非发酵普洱茶。顶空固相微萃取 (headspace solid-phase microextraction, HS-SPME) 是一种具有良好的线性、高重现性和低检出限等特点的前处理方法, 是集合采样、预浓缩和样品导入一系列步骤的前处理技术^[14]。气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 联用技术能够将一个复杂体系中的单一挥发性化合物分离、鉴定和定量, 是鉴定和分析芳香化合物最广泛的技术^[14]。电子鼻和HS-SPME-GC-MS技术联用常用于区分和鉴别不同产地、不同工艺下的茶类^[15]、果类^[16]和酒类^[17]的香气特征差异。

蒸汽爆破 (简称“汽爆”) 原理是水蒸汽依靠高压进入植物组织细胞, 在内部与外部压强平衡的瞬间, 水蒸汽携带组织间的液体迅速释放至空气中的热机械处理过程^[18-20]。汽爆过程中高压汽体渗入膨胀做功, 植物组织结构被打破, 木质纤维素降解成可溶性糖^[21], 物料比表面积增大, 溶剂可及性增加, 活性成分溶出率提高^[22]。同时, 汽爆条件可控, 生产过程中仅使用水以产生水蒸汽, 环境友好、成本低廉, 且生产效率极高^[23], 使得该项技术广泛应用于生物质能源转化^[24-25]、秸秆类再利用^[26]、膳食纤维改性^[27-30]等领域。然而, 有关杜仲叶片汽爆后挥发性化合物变化的研究极少, 在杜仲茶的生产制作应用上香气组分变化鲜有报道, 特别是鲜有研究比较杜仲嫩叶和成熟叶制成的茶样在香气特征上的差别。

为此, 本研究以杜仲‘华仲8号’ (*E. ulmoides* ‘Huazhong 8’) 嫩叶和成熟叶为对象, 结合电子鼻、HS-SPME-GC-MS、气味活度值 (odor activity value, OAV)

法和感官定量描述分析 (sensory quantitative descriptive analysis, SQDA) 法, 对比蒸汽爆破处理前后两种原材料制成的杜仲茶挥发性物质的变化; 同时结合主成分分析 (principal component analysis, PCA) 法和线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 法进行降维分析, 解析嫩叶茶和成熟叶茶关键香气化合物种类及其含量, 以期改善杜仲茶感官品质、采用蒸汽爆破辅助生产具有独特香气的杜仲饮品提供参考依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

杜仲嫩叶和成熟叶采自中国林业科学研究院经济林研究所孟州试验基地 (112°42'58"E, 34°51'38"N) ‘华仲8号’ 1 a嫁接苗。

氯化钠 (分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; 正丁烷 (色谱纯) 德国Merck公司。

1.2 仪器与设备

QBS-80GB蒸汽爆破试验台 鹤壁正道生物能源有限公司; PEN3电子鼻 德国Arisense公司; 6890N-G5795B GC-MS仪 美国Agilent公司; XS204万分之一电子天平 梅特勒-托利多 (上海) 仪器有限公司; Milli-QIntegral超纯水机 美国MerckMillipore公司。

1.3 方法

1.3.1 嫩叶和成熟叶杜仲茶蒸汽爆破加工流程

采摘 ‘华仲8号’ 嫩叶 (3—4 月份) 和成熟叶 (6—7 月份), 日晒凋萎后, 将含水率统一调至30%。基于前期完全试验设计结果, 在蒸汽压力0.45 MPa、稳压时间300 s条件下进行汽爆处理^[31]。汽爆后的成熟叶和嫩叶处理分别记为T1和T2, 未汽爆的成熟叶和嫩叶处理分别记为CK1和CK2。将4个处理的杜仲叶适当切碎后, 分别于55℃烘至足干, 除去叶柄等杂质, 隔纱布摊于蒸锅上30~50 s蒸汽回软, 压制茶饼, 随后55℃烘至足干, 密封贮藏。

1.3.2 香气感官评定

杜仲茶香气的感官评定采用SQDA法, 参照GB/T 23776—2018《茶叶感官审评方法》中的审评方法, 邀请5名具备高级以上专业技术资格的评茶员对茶样成分进行审评, 经评定小组对香气属性进行评定描述后, 选取5个频次最高的香气属性术语为杜仲茶的香气特征属性, 对感官属性制定的评分细则, 以量化描述结果。

1.3.3 电子鼻测定

1.3.3.1 样品前处理

水浴锅提前预热, 每组样品分别称取2.0 g的杜仲茶, 置于洁净的烧杯中, 加入200 mL沸水, 保鲜膜封口后置于沸腾的水浴中, 持续沸腾3 min后迅速取出, 纱布

过滤得到茶汤, 保鲜膜封口后自然冷却至室温。取20 mL茶汤于100 mL的烧杯中, 双层保鲜膜封口, 用于电子鼻测试, 每个样品准备3个平行。

1.3.3.2 电子鼻检测参数

直接将进样针头插入含样品的密封烧杯中, 电子鼻进行测定。测定条件: 采样时间为1 s/组, 传感器自清洗时间为80 s, 传感器归零时间为5 s, 样品准备时间为5 s, 进样流量为400 mL/min, 分析采样时间为80 s。

1.3.4 GC-MS测定

1.3.4.1 样品前处理

称取适量样品经充分磨碎, 置于顶空瓶中, 加入饱和氯化钠溶液和正丁烷内标溶液, 并使用硅胶顶空隔垫的钳口盖密封顶空瓶, 置于80℃水浴中平衡20 min, 再将SPME针扎进顶空中, 继续放入80℃水浴中30 min, 250℃进样口解吸5 min。

1.3.4.2 GC-MS条件

GC条件: 色谱柱为HP-5MS (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 程序升温: 初温50℃保持2 min, 以5℃/min升至180℃保持5 min, 再以10℃/min升至250℃, 保持5 min; 进样口温度为250℃; 传输线温度为280℃; 载气流速为1.0 mL/min; 分流比为不分流。

MS条件: 离子源温度为230℃, 四极杆温度为150℃, 电子电离源, 模式为全扫描, 扫描范围m/z 40~600。

1.3.5 OAV计算方法

在一定范围内, OAV越大说明该香气成分对总体风味贡献越大, 其计算公式^[32]如下:

$$OAV = \frac{C}{T}$$

式中: C为香气成分的含量/(μg/kg); T为香气成分在水中的阈值/(μg/kg)。

1.4 数据处理

使用SPSS 21.0统计软件进行单因素方差分析。Origin 2021作图。通过非线性结构进行SQDA。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), 并结合非参数独立样本Kruskal-Wallis H检验筛选P<0.05的差异挥发性化合物; 通过The Unscrambler X软件分析PLS回归相关性并绘图。

2 结果与分析

2.1 感官评定

SQDA是通过非线性结构表述评估属性的强度, 并利用图形态变化描述样本不同属性的变化, 通常为雷达

图,该方法已在一些食品的感官评定中得到了应用^[33]。4种处理下杜仲茶的香气属性描述词上的平均得分如图1所示,整体上香气属性得分排序为T2>T1>CK2>CK1。经蒸汽爆破处理后,嫩叶和成熟叶茶的香气在感官上都有显著提升,T2除脂香稍弱于T1,木香、花香、坚果香均较显著;T1在脂香、花香表现较好,其次还伴有烤香。

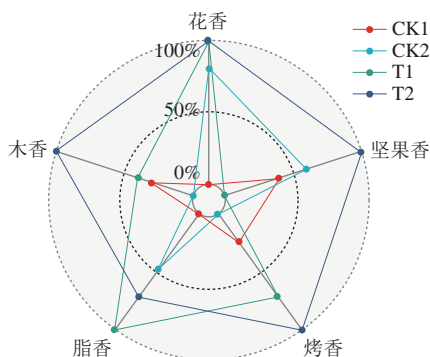


图1 嫩叶和成熟叶杜仲茶的感官评价雷达图

Fig. 1 Radar plot of sensory characteristics of tender and mature *E. ulmoides* leaf tea

2.2 基于电子鼻分析蒸汽爆破对嫩叶和熟叶杜仲茶的影响

电子鼻分析可以在短时间内检测、分析和识别复杂的气味和大部分挥发性成分,重复性好,样品前处理简单易操作,不存在感官疲劳风险,检测结果可靠^[13]。杜仲嫩叶和成熟叶茶的电子鼻响应值表1所示,7个传感器对嫩叶和熟叶杜仲茶样气味的响应值不同。在7个传感器中,W1W、W2S、W2W和W5S 4个传感器的响应值在4个茶样中存在显著差异($P<0.05$, $VIP>1$),即这4个传感器检测到的挥发性物质对杜仲茶样气味的贡献较大。

表1 嫩叶和成熟叶杜仲茶的电子鼻响应值

Table 1 E-nose response values of tender and mature *E. ulmoides* leaf tea

序号	传感器名称	对应灵敏挥发性气体	响应值				VIP值	P值
			T1	CK1	T2	CK2		
1	W1S	甲烷等短链烷烃	2.381±0.201	2.385±0.240	2.421±0.179	2.481±0.135	1.125	0.972
2	W1W	无机硫化物	1.560±0.169	1.610±0.019	1.754±0.236	2.051±0.213	1.056	0.012
3	W2S	醇、醚、醛、酮类	1.650±0.123	1.694±0.045	1.742±0.186	1.856±0.152	1.055	0.042
4	W2W	芳香成分,有机硫化物	1.571±0.156	1.694±0.214	1.794±0.132	2.317±0.206	1.527	0.000
5	W3S	烷烃,长链烷烃类	1.412±0.792	1.452±0.462	1.453±0.485	1.209±0.163	0.987	0.017
6	W5S	氮氧化合物	1.755±0.451	1.821±0.568	2.067±0.155	2.560±0.876	1.262	0.001
7	W6S	氢气	1.284±0.762	1.254±0.135	1.282±0.849	1.201±0.920	0.798	0.074

注:表中数据为 $\bar{x}\pm s$,表2同。

根据表1绘制的电子鼻传感器阵列特征响应雷达图见图2,雷达图的差异一定程度反映了杜仲茶香气强弱的差异。结果表明,4种杜仲茶汤的香气在7种传感器上的响应值均有显著差异,与对照茶样相比,蒸汽爆破处理显著降低嫩叶和熟叶杜仲茶的茶汤气味在各传感器上的响

应值。在成熟叶茶中,经汽爆后的W2W、W1W和W5S 3个传感器响应值较对照有明显下降,W2S和W1S两个传感器响应值较对照有略微下降;在嫩叶杜仲茶中,经汽爆后的W2W、W2S、W1W、W5S和W1S 5个传感器响应值较对照均有不同程度的下降。整体上,熟叶杜仲茶受到蒸汽爆破处理影响程度稍大于嫩叶杜仲茶。

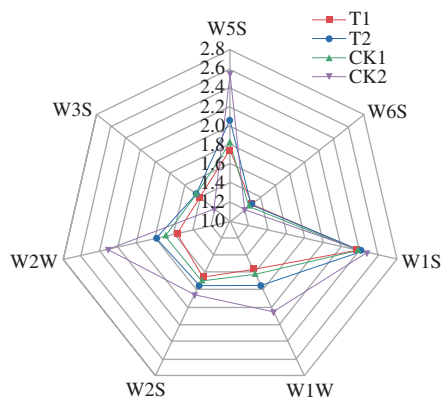


图2 嫩叶和成熟叶杜仲茶的电子鼻传感器响应雷达图

Fig. 2 Radar plot of E-nose sensor responses of tender and mature *E. ulmoides* leaf tea

PCA对电子鼻检测到的挥发性化合物进行降维分析,可表征不同茶样之间起主要区分作用的组分^[34],茶样分布区域距离越远,则气味差异越大。嫩叶和熟叶杜仲茶汤香气的电子鼻PCA图及其电子鼻传感器的关系如图3A所示。结果显示,PC1和PC2贡献率之和达到95%以上,基本上涵盖了茶样的大部分原始信息,其中PC1的贡献率为95.789%,PC2的贡献率为2.342%,由此可见,茶样之间的差异主要表现在PC1上。CK2和CK1两个对照茶样分别与T2和T1两个蒸汽爆破处理的茶样在PC1上差异明显,得到了有效区分。CK2的PC1、PC2的得分均最高,基本处于第1象限,与其他3个茶样之间的距离最远;CK1与T1和T2两个茶样距离虽较近,但在PC1投影上均不重叠,能够较好区分;T2和T1分别位于第3、2象限,两个茶样在PC1上投影重叠,但在PC2上差异明显,说明两个茶样之间存在差异。将载荷图结合电子鼻传感器雷达图发现,W2W和W5S传感器对CK2较灵敏,这与上述雷达图的结果相吻合。W2W和W5S对气味的PC1贡献值较大,W1S和W2S对PC2贡献值较大,说明通过电子鼻传感器特征响应值能够有效区分4种杜仲茶样的香气差异。

LDA也是一种聚类分析方法,一般注重类别的分类以及各种组之间的距离分析,即LDA会尽量缩小组内的差异,扩大组间的差异^[35]。缩小组间差距后的杜仲茶样香气区分更为明显,4种杜仲茶香气能够被有效分开(图3B)。

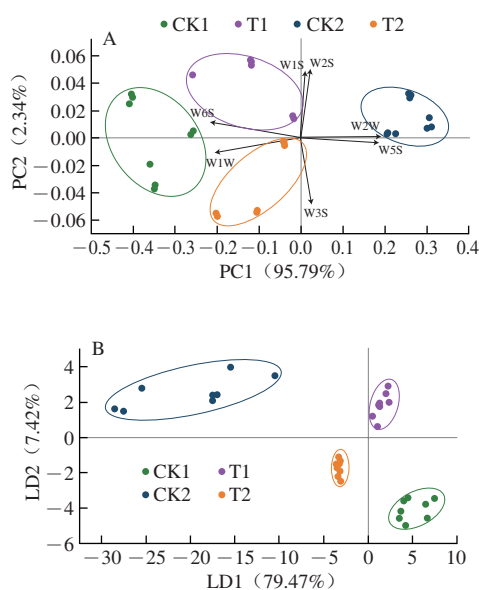


图3 嫩叶和成熟叶杜仲茶的电子鼻数据PCA (A) 和LDA (B) 图
Fig. 3 PCA (A) and LDA plots (B) of E-nose data of tender and mature *E. ulmoides* leaf tea

2.3 香气特征比较

2.3.1 HS-SPME-GC-MS检测结果

为探究嫩叶和熟叶杜仲茶汽爆前后制成杜仲茶的香气特征差异, 利用HS-SPME-GC-MS联用对4种处理杜仲茶的挥发性化合物成分和相对含量进行分析鉴定, 得到其总离子流图(图4), 共检测到177种挥发性物质, 其中, CK1、T1、CK2和T2中可鉴定的峰面积分别占比92.32%、100.00%、94.50%和100.00%。根据化合物类型将其分为碳氢化合物、杂环类化合物、醇类化合物、醛类化合物、酮类化合物、酯类化合物和其他类化合物。由图5A可知, CK1、T1、CK2和T2 4个处理所制的杜仲茶挥发性化合物种数差异显著, 数量排序为T1 > CK2 > T2 > CK1, 汽爆处理后的成熟叶茶挥发性化合物种类高于未汽爆处理, 增加了16种, 而嫩叶茶汽爆前后挥发性化合物种类无显著差异。其中, 嫩叶茶汽爆后醛类、酮类和杂环类分别增加了2、6种和3种, 成熟叶茶汽爆后醇类、醛类和酮类分别增加了5、3种和9种(图5B)。CK1、T1、CK2和T2 4种杜仲茶挥发性化合物相对含量的差异也十分显著, 酯类是相对含量最高的化合物类型, 相对含量分别为42.07%、16.33%、23.70%和21.89%; 酮类相对含量分别为6.63%、29.05%、12.30%和13.15%; 碳氢类的相对含量分别为10.76%、10.83%、14.20%和13.89%; 醇类的相对含量分别为9.27%、15.22%、9.48%和14.87%; 杂环类的相对含量分别为18.73%、8.83%、14.13%和13.13%; 其他类的相对含量分别为0.90%、8.68%、5.25%和4.92%(图5C)。

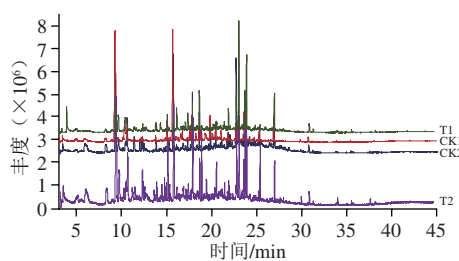


图4 杜仲嫩叶茶和成熟叶茶挥发性物质的总离子流图
Fig. 4 Total ion current chromatograms of volatile substances of tender and mature *E. ulmoides* leaf tea

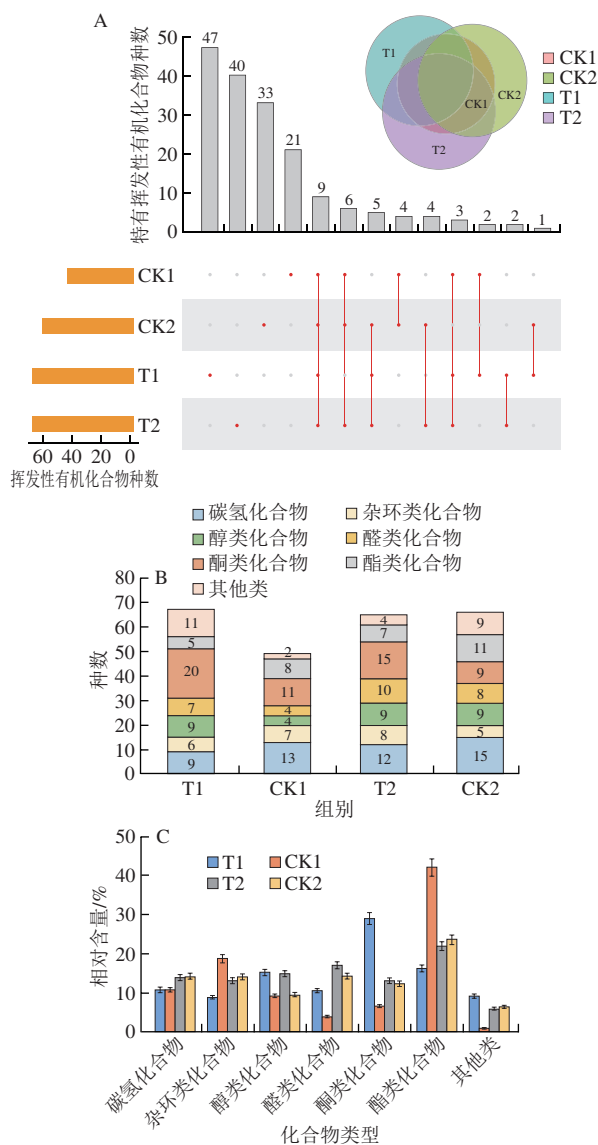


图5 杜仲嫩叶茶和成熟叶茶的挥发性化合物upset图(A)、种数(B)和相对含量(C) of volatile compounds in tender and mature *E. ulmoides* leaf tea

2.3.2 OPLS-DA法分析挥发性化合物

PCA、OPLS-DA可以提取挥发性化合物中的有效信息并体现不同样品香气组成间的差异情况^[36], 在茶叶的

香气特征分析中有着广泛应用,适用于解释变量数量较多的情况。为进一步分析蒸汽爆破处理对杜仲嫩叶茶和成熟叶茶香气成分的影响,采用OPLS-DA对茶样挥发性化合物进行分析。如图6所示,模型累积解释率 R_x^2 为0.999 1,整体预测能力 Q^2 为-0.704 0,置换检验200次的模型 $R^2=0.999 1$, $Q^2=-0.862 5$,并且 Q^2 回归曲线与Y轴的截距小于0,表明模型不存在过度拟合现象,结果较为可靠。在OPLS-DA中,茶样之间距离越小则差异越小,反之则意味着差异较大。CK2、T2、CK1和T1分别置于4个象限,表明杜仲嫩叶茶和成熟叶茶挥发性化合物组成在蒸汽爆破处理后均发生了显著变化,同时,嫩叶茶和成熟叶茶之间的挥发性化合物组成存在显著差异。整体上,4种处理的挥发性化合物组成均能被有效区分开。

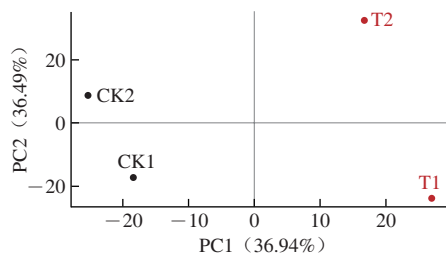


图6 嫩叶和成熟叶杜仲茶挥发性化合物含量的OPLS-DA得分图
Fig. 6 OPLS-DA score plot of volatile component contents of tender and mature *E. ulmoides* leaf tea

VIP作为衡量OPLS-DA模型变量的权重程度,能够代表各处理之间分类判别的影响度和解释力^[37]。VIP值越大,挥发性化合物对茶样整体香气的贡献率越大,筛选挥发性化合物时一般选取VIP ≥ 1 的成分。如表2所示,VIP ≥ 1 的挥发性化合物共有65种。其中,酯类物质主要为二氢猕猴桃内酯、3-呋喃甲基乙酸酯和2-甲基戊酸甲酯,酮类物质主要为大马士酮、香叶基丙酮、 β -紫罗酮、3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮和4-(2,6,6-三甲基-1,3-环己二烯-1-基)-3-丁烯-2-酮,碳氢类物质主要为十二烷、十三烷、十四烷、十六烷和4-甲基-1-(1-甲基乙炔基)环己烯,醇类物质主要为苯甲醇、 α -松油醇和芳樟醇。

表2 基于OPLS-DA模型分析VIP ≥ 1 的挥发性化合物的相对含量和P值

编号	保留时间/min	挥发性化合物	化学式	相对含量/%				VIP值	P值
				T1	CK1	T2	CK2		
1	10.285	1,3,6-环辛三烯	C_8H_{16}	0.03±0.01	1.01±0.04	0.01±0.00	0.01±0.00	1.03	0.000
2	14.952	十二烷	$C_{12}H_{26}$	2.04±0.16	1.87±0.07	2.48±0.17	1.84±0.20	1.01	0.045
3	17.209	4-甲基-1-(1-甲基乙炔基)环己烯	$C_{10}H_{18}$	0.96±0.04	0.01±0.00	0.68±0.01	1.18±0.07	1.02	0.048
4	17.721	十三烷	$C_{13}H_{28}$	3.17±0.95	2.25±0.97	3.07±0.77	3.09±0.84	1.06	0.026
5	20.344	十四烷	$C_{14}H_{30}$	0.89±0.08	0.91±0.04	1.50±0.13	1.46±0.11	1.03	0.014
6	25.206	十六烷	$C_{16}H_{34}$	0.01±0.00	0.90±0.15	2.33±0.19	1.22±0.21	1.07	0.009
		杂环类							
7	9.199	7-甲基7H-二苯并(b,g)吡啶	$C_{13}H_{13}N$	0.01±0.00	0.03±0.00	2.19±0.19	0.04±0.01	1.36	0.052
8	9.510	2-正丙基呋喃	$C_6H_{10}O$	0.04±0.01	1.02±0.10	0.02±0.01	0.02±0.01	1.03	0.218

续表2

编号	保留时间/min	挥发性化合物	化学式	相对含量/%				VIP值	P值
				T1	CK1	T2	CK2		
9	10.995	3-乙酰吡咯	C_5H_7NO	0.01±0.00	0.01±0.00	1.56±0.06	0.01±0.00	1.14	0.086
10	15.615	2,3-二氮苯并呋喃	C_6H_8O	0.21±0.00	11.84±1.21	4.07±0.09	6.89±1.07	1.66	0.012
11	15.616	1H-咪唑并(4,5-b)咪唑	$C_5H_6N_4$	0.02±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	3.63±0.15	1.29	0.071
12	23.553	1-丁氧基-4-甲氧基苯	$C_{10}H_{16}O_2$	0.02±0.00	0.02±0.00	1.13±0.05	0.02±0.00	1.07	0.069
13	23.554	3,5-二羟基戊苯	$C_{10}H_{16}O_2$	4.22±0.17	2.71±0.05	2.92±0.11	2.71±0.09	1.01	0.006
14	23.732	2-氨基-6-甲氧基吡啶	$C_6H_9N_2O$	2.37±0.16	0.09±0.02	0.05±0.03	0.05±0.02	1.21	0.124
		醇类							
15	10.311	苯甲醇	C_7H_8O	8.70±2.18	0.04±0.01	3.00±0.48	2.09±0.08	1.56	0.003
16	12.118	芳樟醇	$C_{10}H_{16}O$	0.06±0.02	0.07±0.04	3.37±0.46	1.19±0.75	1.00	0.034
17	14.770	α -松油醇	$C_{10}H_{16}O$	0.01±0.00	0.53±0.02	1.03±0.08	0.38±0.04	1.00	0.046
		醛类							
18	8.127	苯甲醛	C_7H_6O	0.07±0.05	1.26±0.07	3.05±0.09	2.04±0.14	1.00	0.016
19	9.514	(E,E)-2,4-庚二烯醛	$C_7H_{12}O$	5.29±0.42	0.09±0.07	3.88±0.25	1.86±0.16	1.54	0.007
20	10.482	苯乙醛	C_8H_8O	0.09±0.01	1.76±0.05	4.52±0.36	4.28±0.14	1.15	0.004
21	12.227	壬醛	$C_9H_{18}O$	1.40±0.14	0.59±0.06	1.11±0.04	0.92±0.05	1.00	0.017
22	15.010	2,3-二氢-2,2,6-三甲苯基甲醚	$C_{10}H_{16}O$	0.45±0.03	0.02±0.00	0.84±0.05	0.43±0.06	1.01	0.028
23	15.134	癸醛	$C_{10}H_{20}O$	2.80±0.09	0.35±0.03	0.72±0.06	0.47±0.02	1.03	0.013
24	15.599	β -环柠檬醛	$C_{10}H_{16}O$	0.89±0.09	0.06±0.04	0.02±0.01	0.02±0.01	1.04	0.006
25	20.421	香兰素	$C_8H_8O_3$	0.81±0.06	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	1.02	0.086
26	21.324	苯并(b)呋喃-2-甲酯	$C_{12}H_{10}O_2$	0.77±0.03	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	1.01	0.017
		酮类							
27	9.172	1-乙酰基-3-甲基-2-吡啶咪-5-酮	$C_9H_{10}N_2O_2$	4.24±0.15	0.07±0.02	0.06±0.03	0.05±0.01	1.34	0.192
28	9.511	3-甲基-2-环己烯-1-酮	$C_8H_{14}O$	0.03±0.00	0.03±0.00	0.85±0.02	0.01±0.00	1.00	0.062
29	9.529	3-甲基-3-环己烯-1-酮	$C_8H_{14}O$	1.48±0.11	0.06±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	1.01	0.202
30	11.273	(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮	$C_8H_{14}O$	1.14±0.02	0.06±0.05	0.04±0.01	0.03±0.01	1.05	0.134
31	15.948	3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮	$C_9H_{14}NO_2$	2.80±0.09	0.28±0.04	0.64±0.04	0.38±0.01	1.00	0.006
32	17.221	α -紫罗酮	$C_{13}H_{20}O$	4.06±0.16	1.13±0.03	1.69±0.02	0.10±0.02	1.92	0.018
33	17.717	丁烯酮	C_4H_6O	0.93±0.06	0.04±0.01	0.02±0.01	0.02±0.00	1.01	0.089
34	18.213	2-羟基-1-苯基-1-丁酮	$C_{10}H_{16}O_2$	0.88±0.04	0.02±0.01	0.01±0.00	0.01±0.00	1.00	0.073
35	18.309	2'-羟基苯丙酮	$C_9H_{10}O_2$	0.71±0.05	0.03±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	1.01	0.114
36	18.778	脱氢-二母紫罗兰酮	$C_{15}H_{22}O$	0.65±0.06	0.04±0.02	0.02±0.00	0.02±0.01	1.12	0.144
37	20.038	大马士酮	$C_{15}H_{22}O$	0.72±0.11	0.66±0.18	0.05±0.03	0.04±0.01	1.01	0.051
38	21.255	4-(2,6,6-三甲基-1,3-环己二烯-1-基)-3-丁烯-2-酮	$C_{15}H_{24}O$	1.01±0.05	0.01±0.00	0.56±0.02	0.03±0.04	1.06	0.000
39	21.723	香叶基丙酮	$C_{15}H_{24}O$	2.47±0.07	0.74±0.02	0.81±0.15	0.98±0.14	1.00	0.003
40	22.159	2,4,6-三甲苯基丙酮	$C_{15}H_{22}O$	0.08±0.02	0.07±0.03	0.43±0.16	0.01±0.00	1.08	0.150
41	22.600	β -紫罗酮	$C_{13}H_{20}O$	3.85±1.01	1.35±1.08	2.89±0.19	5.00±1.52	1.00	0.006
42	23.366	3-甲基-6(丙烯-2-亚丙基)环己-2-烯酮	$C_{10}H_{16}O$	0.40±0.11	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	1.05	0.084
43	23.399	2-甲基-2-庚-4-酮	$C_8H_{16}O$	1.13±0.17	0.06±0.02	0.07±0.04	0.05±0.02	1.05	0.133
44	31.125	植酮	$C_{10}H_{18}O$	0.73±0.16	0.06±0.02	0.05±0.02	0.04±0.01	1.02	0.162
		酯类							
45	8.135	NA	C_6H_5NOS	0.07±0.02	0.06±0.01	0.06±0.02	1.68±0.09	1.15	0.690
46	9.173	乙酸糠酯	$C_7H_{10}O_2$	0.06±0.01	0.07±0.05	11.64±2.51	0.05±0.01	1.54	0.000
47	9.174	3-呋喃甲基乙酸酯	$C_7H_{10}O_2$	4.43±0.82	17.36±2.16	0.95±0.26	12.51±2.01	1.85	0.000
48	9.186	α,α -二氧乙基乙酸酯	$C_6H_8N_2O_2$	0.03±0.01	0.03±0.00	1.89±0.15	0.07±0.03	1.15	0.147
49	9.200	2-甲基-5-氧代丙酸甲酯	$C_7H_{12}NO_2$	0.53±0.17	9.68±0.17	0.21±0.02	0.16±0.07	1.52	0.163
50	10.274	扁桃酸乙酯	$C_9H_{10}O_2$	0.27±0.07	4.29±0.16	0.04±0.02	0.05±0.02	1.34	0.093
51	10.472	邻氨基苯甲酸酯	$C_8H_9NO_2$	0.03±0.00	0.02±0.00	0.06±0.01	1.01±0.03	1.04	0.089
52	11.284	2-甲基-3-甲基-环戊烷羧酸甲酯	$C_9H_{16}O_2$	0.06±0.01	0.07±0.02	2.33±0.25	0.11±0.02	1.19	0.076
53	14.584	2-吡啶甲酸乙酯	$C_8H_9NO_2$	0.03±0.01	0.01±0.00	1.21±0.16	0.09±0.03	1.05	0.059
54	15.577	2-乙基-1,2,3-丙三基丁酸酯	$C_{11}H_{20}O_2$	0.02±0.01	0.02±0.00	0.03±0.01	0.94±0.05	1.02	0.094
55	15.575	2-甲基戊酸甲酯	$C_8H_{16}O_2$	0.06±0.04	2.95±0.06	1.19±0.13	0.67±0.04	1.01	0.011
56	19.246	2,2,4-三甲基戊-2-醇异丁酯	$C_{10}H_{20}O_2$	0.09±0.04	1.79±0.06	0.05±0.01	0.04±0.01	1.15	0.093
57	19.748	2-甲基-丙酸-3-羟基-2,2,4-三甲基戊基酯	$C_{14}H_{28}O_2$	0.68±0.14	3.14±0.13	0.04±0.02	1.35±0.21	1.00	0.012
58	19.757	四氢糠醇乙酸酯	$C_7H_{12}O_2$	0.03±0.01	0.04±0.02	0.05±0.01	0.36±0.04	1.01	0.083
59	19.761	NA	$C_7H_{12}NO$	0.08±0.04	1.53±0.07	0.07±0.01	0.06±0.02	1.11	0.076
60	20.352	2-四氢糠基辛酸甲酯	$C_9H_{16}O_2$	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.40±0.12	1.00	0.069
61	23.713	二氢猕猴桃内酯	$C_{11}H_{18}O_2$	9.96±0.24	1.33±0.15	3.33±0.49	3.05±0.66	1.11	0.020
62	23.722	1,4-环己二烯-1-甲酸甲酯	$C_8H_{12}O_2$	0.02±0.00	0.02±0.00	0.03±0.01	0.55±0.05	1.00	0.130
		其他类							
63	12.575	甲基麦芽酚	$C_8H_{10}O_2$	0.93±0.48	0.05±0.01	0.04±0.02	0.04±0.02	1.00	0.058
64	17.221	2-正丙基苯酚	$C_8H_{10}O$	1.10±0.46	0.04±0.01	0.05±0.01	0.06±0.02	1.04	0.094
65	23.231	NA	$C_8H_{10}O$	0.49±0.16	0.11±0.02	0.15±0.08	0.58±0.12	1.00	0.133

注: NA.该化合物未被鉴定出来。

为进一步缩小特征香气化合物范围，从VIP≥1的挥发性化合物中，筛选出差异代谢物达到显著水平（即P<0.05）的挥发性化合物，得到24种特征香气化合物，对应的层次聚类热图如图7所示，其中，CK2中相对含量最高的是醛类和杂环类，CK1、T1和T2中相对含量最高的是酯类。T2和T1中相对含量增加最显著的均是酯类和酮类，分别增加了13.06%和4.12%、9.71%和4.84%。

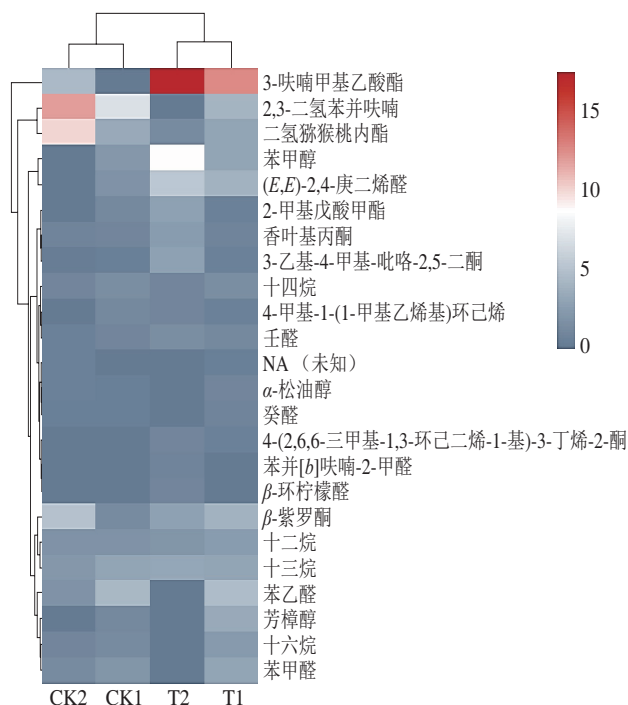


图7 嫩叶和成熟叶杜仲茶特征香气成分相对含量层次聚类热图

Fig. 7 Hierarchical clustering heatmap of the relative contents of characteristic aroma components in tender and mature *E. ulmoides* leaf tea

2.3.3 特征香气化合物与感官评定之间的相关性分析

通过PLSR进行4个茶样的感官评定结果和特征香气化合物的相关性分析。X矩阵（贡献率73.43%）代表不同茶样的特征香气化合物，Y矩阵（贡献率98.13%）代表不同茶样的感官评定结果，香气化合物和感官属性之间的关系如图8所示。图中的大、小圆环分别表示100%和50%的相关性，分布在两个圆环之间则表示相关性良好，大多数数据分布在双环之间，这说明图中的特征香气化合物与感官属性均呈显著相关。由图8可见，与花香、脂香关联的特征香气化合物占比较多，其中，花香与苯甲醇和香叶基丙酮等香气化合物的关联性较好，脂香与(E,E)-2,4-庚二烯醛和3-呋喃甲基乙酸酯的关联性较好，这说明花香和脂香气占据杜仲茶特征香气的主要地位。

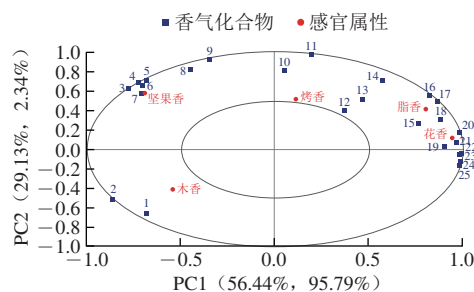


图8 特征香气化合物与感官属性的PLSR图

Fig. 8 PLSR plot of correlation of characteristic aroma compounds with sensory attributes

1~25依次为二氢猕猴桃内酯、2,3-二氢苯并呋喃、癸醛、苯甲醛、十六烷、苯乙醛、α-松油醇、十四烷、芳樟醇、4-(2,6,6-三甲基-1,3-环己二烯-1-基)-3-丁烯-2-酮、β-紫罗酮、4-甲基-1-(1-甲基乙烯基)环己烯、十三烷、3-呋喃甲基乙酸酯、(E,E)-2,4-庚二烯醛、壬醛、苯甲醇、2-甲基-丙酸-3-羟基-2,2,4-三甲基戊基酯、苯甲醇、2-甲基戊酸甲酯、3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮、3,5-二羟基戊苯、香叶基苯酮、苯并[b]呋喃-2-甲醛、β-环柠檬醛。

2.3.4 OAV法分析特征香气成分

OAV表征了茶样中不同香气成分对整体香气的贡献程度。基于OPLS-DA法筛选出的VIP≥1、P<0.05的24种特征香气成分进行OAV分析（表3）。

表3 特征挥发性化合物的相对含量、阈值和OAV

Table 3 Relative contents, thresholds and odor activity value (OAV) of characteristic volatile compounds

编号	CAS号	特征挥发性化合物	阈值/ (μg/kg)	OAV			
				T1	CK1	T2	CK2
酯类							
1	17092-92-1	二氢猕猴桃内酯	2.1 ^[38]	4.743	0.633	1.586	1.452
醇类							
2	100-51-6	苯甲醇	100 ^[39]	0.087		0.030	0.021
3	10482-56-1	α-松油醇	330 ^[38]		0.002	0.003	0.001
4	78-70-6	芳樟醇	6 ^[39]			0.562	0.198
醛类							
5	124-19-6	壬醛	1.1 ^[38]	1.273	0.536	1.009	0.836
6	112-31-2	癸醛	6 ^[38]		0.058	0.120	0.078
7	100-52-7	苯甲醛	3 ^[40]		0.420	1.017	0.680
8	122-78-1	苯乙醛	4 ^[39]		0.440	1.130	
9	4313-3-5	(E,E)-2,4-庚二烯醛	10 ^[38]		0.529		0.388
10	432-25-7	β-环柠檬醛	5 ^a		0.178		
酮类							
11	3796-70-1	香叶基丙酮	60 ^[39]	0.041	0.012	0.014	0.016
12	127-41-3	β-紫罗酮	7 ^[38]	0.667	0.346	0.649	0.714
13	1203-08-3	4-(2,6,6-三甲基-1,3-环己二烯-1-基)-3-丁烯-2-酮	7 ^a		0.144		0.080

注：a.阈值数据来源于http://www.odour.org.uk。

基于OAV的香气特征分析如表4所示，当OAV>1时，定义为关键香气成分，该香气成分对总体香气有直接影响；当0.1<OAV≤1时，定义为修饰性香气成分，该香气成分对总体香气有辅助影响；当0<OAV≤0.1

表4 基于OAV的香气特征分析
Table 4 OAV-based aroma characteristics

香气成分	T1		CK1		T2		CK2					
	香气特征成分	OAV	香气特征成分	OAV	香气特征成分	OAV	香气特征成分	OAV				
关键香气成分	二氢猕猴桃内酯	4.743	甜桃香、木香味 ^[38]		二氢猕猴桃内酯	1.586	甜桃香、木香 ^[38]	二氢猕猴桃内酯	1.452	甜桃香、木香 ^[38]		
	壬醛	1.273	柑橘香、花香、焦糖香 ^[38]		壬醛	1.009	柑橘香、花香、焦糖香 ^[38]					
					苯甲醛	1.017	苦杏仁味、坚果香 ^[40]					
					苯乙醛	1.130	玫瑰香、花香、巧克力香 ^[39]					
修饰性香气成分	(E,E)-2,4-庚二烯醛	0.529	发酵的陈香, 脂香 ^[39]	二氢猕猴桃内酯	0.633	甜桃香、木香 ^[38]	芳樟醇	0.562	花香、柑橘气味 ^[39]	芳樟醇	0.198	花香、柑橘气味 ^[39]
	β -环柠檬醛	0.178	烘烤香 ^a	壬醛	0.536	柑橘香、花香、焦糖香 ^[38]	癸醛	0.120	橙皮味 ^[38]	壬醛	0.836	柑橘香、花香、焦糖香 ^[38]
	β -紫罗酮	0.667	花香、紫罗兰香 ^[38]	苯甲醛	0.420	苦杏仁味、坚果香 ^[40]	(E,E)-2,4-庚二烯醛	0.388	发酵的陈香, 脂香 ^[39]	苯甲醛	0.680	苦杏仁味、坚果香 ^[40]
	4-(2,6,6-三甲基-1,3-环己二烯-1-基)-3-丁烯-2-酮	0.144	强烈的玫瑰花香 ^a	苯乙醛	0.440	玫瑰香、花香、巧克力香 ^[39]	β -紫罗酮	0.649	花香、紫罗兰香 ^[38]	β -紫罗酮	0.714	花香、紫罗兰香 ^[38]
	苯甲醇	0.087	花香、香水 ^[40]	β -紫罗酮	0.346	花香、紫罗兰香 ^[38]	苯甲醇	0.030	花香、香水 ^[40]	苯甲醇	0.021	花香、香水 ^[40]
	香叶基丙酮	0.041	花香 ^[39]	α -松油醇	0.002	丁香 ^[38]	α -松油醇	0.003	丁香 ^[38]	α -松油醇	0.001	丁香 ^[38]
				癸醛	0.058	橙皮味 ^[38]	香叶基丙酮	0.014	花香 ^[39]	癸醛	0.078	橙皮味 ^[38]
潜在香气成分			香叶基丙酮	0.012	花香 ^[39]	4-(2,6,6-三甲基-1,3-环己二烯-1-基)-3-丁烯-2-酮	0.080	强烈的玫瑰花香 ^a	香叶基丙酮	0.016	花香 ^[39]	

注: a. 香气描述来源于<http://www.thegoodscentscompany.com/>。

时, 定义为潜在香气成分, 该香气成分对总体香气有潜在影响^[41]。在一定范围内, OAV越大说明该香气成分对总体风味贡献越大。T1的关键香气组分(OAV>1)为二氢猕猴桃内酯和壬醛, 呈现甜桃香、木香、柑橘香、花香、焦糖香, CK2为二氢猕猴桃内酯, 呈现甜桃香、木香, T2为二氢猕猴桃内酯、壬醛、苯甲醛和苯乙醛, 呈现甜桃香、木香、柑橘香、花香、焦糖香、苦杏仁味、坚果香、玫瑰香、巧克力香。二氢猕猴桃内酯在T1、T2和CK2 3种茶样香气中均占主导地位, 其OAV以T1最高, 为4.743, 其次是T2为1.586。

3 讨论

3.1 汽爆处理前、后杜仲嫩叶和成熟叶茶挥发性成分分析及感官评定

感官评定结果表明, 汽爆处理后的嫩叶茶和成熟叶茶分别不同程度地增加了木香、花香和坚果香以及脂香和花香, 其中, 嫩叶茶的香气要略重于成熟叶茶。电子鼻分析表明, 汽爆前两种杜仲茶的响应值均较高, 嫩叶茶的响应程度明显大于成熟叶茶, 这种差异可能是其中的青草气较重导致的。同时, PCA和LDA所得到的模型拟合度较好, 能很好地将4个茶样的香气区分, 说明嫩叶茶和成熟叶茶在汽爆前后, 二者之间的香气组分均存在显著差异, 且汽爆前后香气组分均有显著变化。HS-SPME-GC-MS检测结果发现, 共检测出177种挥发性化合物, 其中酯类的相对含量最高, 化合物种类数量排序为T1>CK2>T2>CK1, 汽爆处理后的成熟叶茶种类增加了16种, 而嫩叶茶种类无明显变化。OPLS-DA表明, 4个茶样之间能实现较好的区分($R^2_x=0.9991$,

$Q^2=-0.8625$), 以VIP ≥ 1 为标准, 筛选出了65种挥发性成分, 剔除 $P>0.05$ 的成分后, 得到24种特征香气成分, 嫩叶茶和成熟叶茶经汽爆后酯类和酮类相对含量分别增加了13.06%和4.12%、9.71%和4.84%。特征香气化合物与感官评定之间相关性分析表明, 杜仲茶中的苯甲醇和香叶基丙酮是花香的主要来源, (E,E)-2,4-庚二烯醛和3-呋喃甲基乙酸酯是脂香的主要来源, 花香气和脂香气是杜仲茶的主要特征香气, 这与感官评定结果相符合。

现有关于杜仲茶香气特征的研究中, 多是对杜仲叶的发酵产物进行挥发性化合物分析。Wang Zhihong等^[42]以不同食用菌发酵杜仲叶后, 鉴定杜仲叶及其发酵产物, 共得到162个信号峰, 鉴定出醇类、醛类、酮类、酸类、酯类等68种化合物, 结果表明挥发性成分的组成和含量可以通过生物发酵技术被不同的微生物菌株改变。刘梦培等^[41]以不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液, 挥发性成分数量由31种增加至51种, 且关键香气成分含量增加显著, 发酵后产生独特花香气的二氢- α -紫罗兰酮。也有学者分析了微波干燥、保绿等热处理工艺对杜仲香气的影响^[43-44], 发现这些工艺均能有效提升杜仲茶香气品质, 所得杜仲茶呈现出特有的杜仲典型香气。

本研究认为, 二氢猕猴桃内酯是4种杜仲茶的香气基调, 经蒸汽爆破处理后, 生成的其他特有香气物质是杜仲汽爆茶具有各类香气特征的主要因素之一。杜仲嫩叶汽爆茶中二氢猕猴桃内酯、壬醛、苯甲醛和苯乙醛对其香气特征有主要贡献, 产生了甜桃香、木香、柑橘香、花香等香气。王娟等^[45]以杜仲、甘草和葛根为原料, 调配枣汁, 分析得到异戊醛、反式-2-己烯醛、2-庚酮、1-辛烯-3-醇、正辛醛、苯乙醛、苯乙酮、壬醛和香

叶基丙酮为目标产物的特征香气物质, 呈现果香、玫瑰香等花果香气, 与本研究中的杜仲嫩叶汽爆茶结果相似。杜仲熟叶汽爆茶中二氢猕猴桃内酯和壬醛对香气特征有主要贡献, 产生了甜桃香、花香、焦糖香等香气。刘梦培等^[4]使用植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 发酵杜仲叶水提物, 关键呈香物3-糠醛、大马士酮和芳樟醇等呈现果香、花香、焦香, 与本研究中的杜仲熟叶汽爆茶结果相似。曾桥等^[46]分析杜仲叶茯砖茶的挥发性成分, 得出加工过程前后挥发性成分组成和含量变化显著, 酸类、酯类、酮类和醇类为主要的挥发性成分, 本研究中酸类含量较少, 但酯类、酮类和醇类同样占比较大, 该部分结论与本研究结果一致。

3.2 PCA、LDA及OPLS-DA结合OAV法分析比较4种杜仲茶香气特征

曾桥等^[46]采用HS-SPME-GC-MS技术鉴定杜仲叶茯砖茶加工过程中的挥发性成分, 共鉴定出152种挥发性化合物, 结合PCA和PLS-DA筛选了杜仲叶茯砖茶特有香气物质来源; 林先丽等^[47]采用PLS-DA确定了棕榈酸乙酯和乙酸等的16个将白酒划分为3个等级的关键差异化化合物; 金友兰等^[48]采用PLS-DA模型从不同类型发花砖茶中以VIP>1筛选了24种差异香气物质, 结合OAV>1进一步筛选出15种特征香气; 党昕等^[16]将GC-MS结合电子鼻技术以区分不同预处理方式下沙枣风味的变化, 通过GC-MS确定14种特征香气, 由电子鼻结果的响应值雷达图和PCA有效区分各样品间的香气强度, OPLS-DA验证了特征香气与感官属性间的相关性; 罗红玉等^[49]采用OPLS-DA比较了重庆沱茶压制前后香气特征变化, 并结合OAV比较4种干燥工艺对风味品质的影响, 发现 β -紫罗酮和芳樟醇对香气贡献度最大。

本研究首先对杜仲茶香气进行了整体感知, 进行感官评定和电子鼻分析, 基于电子鼻的雷达图、PCA和LDA对比两种杜仲茶汽爆处理前后的气味强度, 确定汽爆处理和采摘时段影响了杜仲茶的香气组成, GC-MS检测结果采用OPLS-DA法将4种处理的杜仲茶有效区分后, 筛选VIP \geq 1、 $P < 0.05$ 的挥发性成分, 并进行特征香气化合物与感官评定间的相关性分析, 验证了杜仲汽爆茶特征香气的挥发性化合物主要来源, 最后, 用OAV将4种杜仲茶的特征香气化合物划分为关键香气成分、修饰性香气成分和潜在香气成分, 进一步细化了各种杜仲茶特征香气的具体贡献程度和多种气味之间的强弱关系。

4 结论

蒸汽爆破处理对杜仲嫩叶茶和成熟叶茶的香气特征均有显著影响。未汽爆处理嫩叶茶的关键香气成分为二氢猕猴桃内酯, 呈现甜桃香、木香, 经汽爆处理后嫩叶茶的关键香气为二氢猕猴桃内酯、壬醛、苯甲醛和苯乙醛, 呈现甜桃香、木香、柑橘香、花香、焦糖香、苦杏

仁味、坚果香、玫瑰香、巧克力香。未汽爆处理成熟叶茶无明显的关键香气, 汽爆后成熟叶茶的关键香气为二氢猕猴桃内酯和壬醛, 呈现甜桃香、木香、柑橘香、花香、焦糖香。本研究结果可为杜仲叶在茶饮品方面的开发利用提供参考依据, 且所用的研究方法可运用于多种食品的香气分析研究。

参考文献:

- [1] JIANG P Z, DICKSON D W. Parkinson's disease: experimental models and reality[J]. *Acta Neuropathologica*, 2018, 135(1): 13-32. DOI:10.1007/s00401-017-1671-4.
- [2] LIM K L, NG X H, GRACE L G Y, et al. Mitochondrial dynamics and Parkinson's disease: focus on parkin[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2012, 16(9): 935-949. DOI:10.1089/ars.2011.4105.
- [3] ZHU M Q, SUN R C. *Eucommia ulmoides* Oliver: a potential feedstock for bioactive products[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(22): 5433-5438. DOI:10.1021/acs.jafc.8b01312.
- [4] 刘梦培, 铁珊珊, 王璐, 等. 发酵条件对杜仲茶组分及抗氧化性的影响[J]. *食品科技*, 2018, 43(2): 105-108.
- [5] 张敏, 张锦程, 王琪琰, 等. 不同类别的杜仲茶汤胶体特性与综合品质相关性分析[J]. *农产品加工*, 2021(7): 48-50. DOI:10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2021.04.012.
- [6] 刘梦培, 李佳, 靳学远, 等. 不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液的香气成分分析[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(9): 36-43. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020070173.
- [7] 阳景阳, 梁光志, 李子平, 等. 基于气味活度值法的凌云白毫发酵茶香气特征分析[J]. *食品科学*, 2023, 44(14): 336-343. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220923-254.
- [8] HE C J, GUO X M, YANG Y M, et al. Characterization of the aromatic profile in "zijuán" and "pu-erh" green teas by headspace solid-phase microextraction coupled with GC-O and GC-MS[J]. *Analytical Methods*, 2016, 8(23): 4727-4735. DOI:10.1039/c6ay00700g.
- [9] XIA J J, GUO Z L, FANG S, et al. Effect of drying methods on volatile compounds of burdock (*Arctium lappa* L.) root tea as revealed by gas chromatography mass spectrometry-based metabolomics[J]. *Foods*, 2021, 10(4): 868-884. DOI:10.3390/foods10040868.
- [10] WANG J, LI X H, WU Y, et al. HS-SPME/GC-MS Reveals the season effects on volatile compounds of green tea in high-latitude region[J]. *Foods*, 2022, 11(19): 3016-3029. DOI:10.3390/foods11193016.
- [11] TAN J Z, XU J. Applications of electronic nose (E-nose) and electronic tongue (E-tongue) in food quality-related properties determination: a review[J]. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 2020, 4: 104-115. DOI:10.1016/j.aiaa.2020.06.003.
- [12] TAN J Z, KERR W L. Characterizing cocoa refining by electronic nose using a Kernel distribution model[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 104: 1-7. DOI:10.1016/j.lwt.2019.01.028.
- [13] YANG X M, LIU Y L, MU L H, et al. Discriminant research for identifying aromas of non-fermented Pu-erh tea from different storage years using an electronic nose[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2018, 42: e13721. DOI:10.1111/jfpp.13721.
- [14] YANG Y Q, YIN H X, YUAN H B, et al. Characterization of the volatile components in green tea by IRAE-HS-SPME/GC-MS combined with multivariate analysis[J]. *PLoS ONE*, 2018, 3(13): e0193393. DOI:10.1371/journal.pone.019.
- [15] LV H P, ZHONG Q S, LIN Z, et al. Aroma characterisation of Pu-erh tea using headspace-solid phase microextraction combined with GC/MS and GC-olfactometry[J]. *Food Chemistry*, 2012, 130(4): 1074-1081. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.07.135.

- [16] 党昕, 刘军, 姚凌云, 等. GC-MS结合GC-O、电子鼻评价不同预处理方式对沙枣风味的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(6): 327-335. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220514-188.
- [17] 马宁原, 姚凌云, 孙敏, 等. 基于GC-IMS和GC-MS分析不同发酵方式对黄桃酒香气成分的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(12): 306-314. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220901-019.
- [18] JIANG F, GUAN H N, LIU D Y, et al. Flavonoids from sea buckthorn inhibit the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages through the MAPK and NF- κ B pathways[J]. Food & Function, 2017, 8(3): 1313-1322. DOI:10.1039/c6fo01873d.
- [19] MARQUES F P, SILVA L M A, LOMONACO D. Steam explosion pretreatment to obtain eco-friendly building blocks from oil palm mesocarp fiber[J]. Industrial Crops and Products, 2020, 143: 111907. DOI:10.1016/j.indcrop.2019.111907.
- [20] ZHAO W, YANG R J, ZHANG Y Q, et al. Sustainable and practical utilization of feather keratin by an innovative physicochemical pretreatment: high density steam flash-explosion[J]. Green Chemistry, 2012, 14(12): 3352-3360.
- [21] YU Z D, ZHANG B L, YU F Q, et al. A real explosion: the requirement of steam explosion pretreatment[J]. Bioresource Technology, 2012, 121: 335-341. DOI:10.1016/j.biortech.2012.06.055.
- [22] DING H H, LIU H D, YANG Y, et al. Enhanced gutta-percha production from *Eucommia ulmoides* Oliver via steam explosion[J]. Journal of Biobased Materials and Bioenergy, 2019, 13(3): 353-362. DOI:10.1166/jbmb.2019.1853.
- [23] FU X G, CHEN H Z. Air-steam explosion enhancing the extraction efficiency of chlorogenic acid from leaves of *Eucommia ulmoides* Oliver[J]. Separation and Purification Technology, 2015, 146: 317-325. DOI:10.1016/j.seppur.2015.03.054.
- [24] SONG H D, YANG R J, ZHAO W, et al. Innovative assistant extraction of flavonoids from pine (*Larix olgensis* Henry) needles by high-density steam flash-explosion[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2014, 62(17): 3806-3812. DOI:10.1021/jf405412r.
- [25] CHEN G, CHEN H. Enhancement of oil extraction from sumac fruit using steam explosion pretreatment[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2011, 88(1): 151-156. DOI:10.1007/s11746-010-1650-6.
- [26] WANG L, XU H G, YUAN F, et al. Preparation and physicochemical properties of soluble dietary fiber from orange peel assisted by steam explosion and dilute acid soaking[J]. Food Chemistry, 2015, 185: 90-98. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.03.112.
- [27] 田婧, 聂晶, 王树林, 等. 蒸汽爆破对膳食纤维改性作用的研究进展[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(5): 167-171. DOI:10.16210/j.cnki.1007-7561.2022.05.012.
- [28] TU J Q, LIU H P, SUN N X, et al. Optimization of the steam explosion pretreatment effect on total flavonoids content and antioxidative activity of *Seabuckthorn pomace* by response surface methodology[J]. Molecules, 2018, 24(1): 60-68. DOI:10.3390/molecules24010060.
- [29] 肖园园, 徐晨凤, 王露露, 等. 膳食纤维物理改性及其营养效应的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(14): 346-356. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.035226.
- [30] 孙金洪, 焦文雅, 吴超, 等. 蒸汽爆破对膳食纤维的影响及应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(20): 449-457. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2022120026.
- [31] 周昀菲, 杜庆鑫, 王志勇, 等. 蒸汽爆破对杜仲叶水提液活性成分、抗氧化活性及香气组分的影响[J/OL]. 南京林业大学学报(自然科学版). [2024-01-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1161.S.20231226.1715.004.html>.
- [32] SWIEGERS J H, BARTOWSKY E J, HENSCHKE P A, et al. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour[J]. Australian Journal of Grape & Wine Research, 2005, 11(2): 139-173. DOI:10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285.x.
- [33] RAITHATHA C, ROGERS L. Panel quality management: performance, monitoring and proficiency[M]. HOBOKEN N J. Descriptive analysis in sensory evaluation. USA: Wiley Online Library, 2018: 113-164. DOI:10.1002/9781118991657.ch4.
- [34] DONG W J, HU R S, LONG Y Z, et al. Comparative evaluation of the volatile profiles and taste properties of roasted coffee beans as affected by drying method and detected by electronic nose, electronic tongue, and HS-SPME-GC-MS[J]. Food Chemistry, 2019, 272: 723-731. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.0.
- [35] THARWAT A, GABER T, IBRAHIM A, et al. Linear discriminant analysis: a detailed tutorial[J]. AI Communications, 2017, 30(2): 169-190. DOI:10.3233/AIC-170729.
- [36] QI D D, MIAO A Q, CAO J X, et al. Study on the effects of rapid aging technology on the aroma quality of white tea using GC-MS combined with chemometrics: in comparison with natural aged and fresh white tea[J]. Food Chemistry, 2018, 265: 189-199. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.05.080.
- [37] HUANG X W, ZHAO L H, PANG S, et al. Effects of varieties, cultivation methods, and origins of *Citrus sinensis* 'hongjiang' on volatile organic compounds: HS-SPME-GC/MS analysis coupled with OPLS-DA[J]. Agriculture, 2022, 12(10): 1725-1737. DOI:10.3390/agriculture12101725.
- [38] ZHU J C, CHEN F, WANG L Y, et al. Comparison of aroma-active volatiles in oolong tea infusions using GC-olfactometry, GC-SPME, and GC-MS[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63(34): 7499-7510. DOI:10.1021/acs.jafc.5b02358.
- [39] 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.
- [40] 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.
- [41] 陈芝飞, 蔡莉莉, 郝辉, 等. 香气活力值在食品关键香气成分表征中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(19): 329-335. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201819049.
- [42] WANG Z H, PENG M J, SHE Z. Development of a flavor fingerprint by gas chromatography ion mobility spectrometry with principal component analysis for volatile compounds from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves and its fermentation products[J]. BioResources, 2020, 15(4): 9180-9196. DOI:10.15376/BIORES.15.4.9180-9196.
- [43] DONG J E, MA X H, FU Z R, et al. Effects of microwave drying on the contents of functional constituents of *Eucommia ulmoides* flower tea[J]. Industrial Crops and Products, 2011, 34(1): 1102-1110. DOI:10.1016/j.indcrop.2011.03.026.
- [44] DONG J N, MA X H, MA Z, et al. Effects of green-keeping treatment on the functional constituents in flower tea of *Eucommia ulmoides*[J]. Industrial Crops and Products, 2012, 36(1): 389-394.
- [45] 王娟, 赵江, 陈见容, 等. 红枣杜仲复合饮料的配方优化及其风味物质分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(2): 215-222. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2019.02.037.
- [46] 曾桥, 唐文洁, 温谨瑞, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法分析杜仲叶茯砖茶加工过程中挥发性成分[J]. 食品工业科技, 2023, 44(1): 96-108. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2022030409.
- [47] 林先丽, 张晓娟, 李晨, 等. 气相色谱-质谱和电子舌对不同质量等级酱香型白酒的判别分析[J]. 食品科学, 2023, 44(24): 329-338. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230115-117.
- [48] 金友兰, 黄甜, 蒋容港, 等. 不同类型发花砖茶特征香气成分研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(3): 188-196. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.025075.
- [49] 罗红玉, 王奕, 谷雨, 等. 干燥工艺对重庆沱茶及其毛茶风味品质的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(22): 259-266. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220122-228.