

基于气质联用 / 气相色谱 - 嗅觉测定技术的西湖龙井茶特征香气成分分析

汪厚银, 李志, 张剑, 史波林, 支瑞聪, 赵镭*
(中国标准化研究院食品与农业标准化研究所, 北京 100088)

摘要: 采用动态顶空(微阱捕集法, Itex)提取西湖龙井茶汤的香气物质, 应用气质联用 / 气相色谱 - 嗅觉测定技术同时测定其挥发性呈香成分和嗅觉特征, 结合检测频率分析初步确定二甲硫醚、2-甲硫基丙醛、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、芳樟醇、 α -松油醇、香叶醇和顺-茉莉酮为西湖龙井茶的特征香气成分。

关键词: 西湖龙井; 气质联用; 气相色谱 - 嗅觉测定; 特征香气; 动态顶空提取

Determination of Characteristic Aromatic Components in Xihu Longjing Tea by GC-MS and GC-Olfactometry

WANG Hou-yin, LI Zhi, ZHANG Jian, SHI Bo-lin, ZHI Rui-cong, ZHAO Lei*
(Food and Agriculture Standardization Institute, China National Institute of Standardization, Beijing 100088, China)

Abstract: In order to simultaneously determine the aromatic composition and odor characteristics of Xihu Longjing tea by as chromatography (GC)-mass spectrometer (MS) and GC-olfactometry, volatile aromatic components were extracted from Xihu Longjing tea infusion in-tube extraction and direct thermal desorption (ITEX). It was confirmed that the compounds responsible for the characteristic aroma of Xihu Longjing tea were dimethyl sulfide, 2-(methylthio) propionaldehyde, 3-ethyl- 2,5-dimethylpyrazine, linalool, α -terpineol, geraniol and cis-jasmone.

Key words: Xihu Longjing tea; gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS); GC-olfactometry; characteristic aroma; dynamic headspace extraction

中图分类号: TS272

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)08-00248-04

龙井茶是一种原产地域产品, 指在原产地域范围内采摘的茶树鲜叶, 按照传统工艺技术在原产地域范围内加工而成, 具有“色绿、香郁、味醇、形美”的扁形绿茶^[1]。而龙井茶的原产地域又可细分为西湖产区、钱塘产区和越州产区, 其中尤以西湖产区的龙井茶最富盛名, 根据其品质的不同, 经济价值差异巨大。长期以来, 龙井茶品质评价主要依靠专业的茶叶评审员来进行^[2], 其中对于龙井茶香气的的评价是非常重要的一个方面, 评价的结果通常是以百分制来表达, 分数越高, 表明香气品质越高, 存在一定的主观性。因而确定西湖龙井茶的特征香气成分, 对于其香气品质评价具有客观的指导意义。

已有的关于西湖龙井茶香气的研究关注于气质联用(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)的结

果^[3], 对成分信息的解析能够得到西湖龙井茶香气的物质基础, 但往往质谱检测与人的嗅闻二者不能够一一对应^[4], 对于某些闻香阈值较低的嗅感物质来说, 人的灵敏度远优于质谱, 因此, 人工嗅闻的检测显得尤为重要^[5]。

本实验采用直接冲泡的样品前处理方法^[6], 较制取精油的前处理操作简单, 且更能够保持西湖龙井茶的“原香”^[7]; 应用动态顶空技术^[8]吸附样品顶空气并循环富集, 较静态顶空技术^[9]、顶空固相微萃取技术(headspace solid phase microextraction, HS-SPME)^[10-11]具有灵敏度更高、适应性更广的优势; 最后在色谱柱末端进行 1:1 的质谱和人工嗅闻同时检测和分析。

基于 GC-O 技术的特征香气成分研究可归纳为 4 种方法^[12]——稀释分析法、时间强度法、频率检测法和峰后

收稿日期: 2011-04-11

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(56096S-1838)

作者简介: 汪厚银(1974—), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为食品科学。E-mail: wanghy@cnis.gov.cn

* 通信作者: 赵镭(1968—), 女, 副研究员, 博士后, 研究方向为食品感官分析。E-mail: zhaolei@cnis.gov.cn

强度法。其中稀释分析(aroma extraction dilution analysis, AEDA)得到了较为普遍的应用,因本研究中未提取茶叶精油,而是直接以茶汤为研究对象,所以采用频率检测和检测强度相结合的方法进行分析。频率检测法较为简便、耗时少,对评价员的要求也不苛刻,结果重复性好,且能够反映嗅辨员的敏感度差异^[13]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

选自西湖龙井茶2010年原产地的“精品”、“特级”和“一级”西湖龙井茶,且每个等级均在西湖龙井原产地内的杨梅岭、翁家山、马鞍山、梅家坞和龙门坎5个细分产地分别采样以保证样品的代表性。

氯化钠(分析纯);C₈~C₂₀正构烷烃标样、4-萜烯醇、香叶醇、1-辛烯-3-醇、芳樟醇氧化物、橙花叔醇、 α -松油醇、 γ -萜品烯、 β -蒎烯、柠檬烯、 β -紫罗兰酮、1-己醇、庚醛、3-甲硫基丙醛、 β -月桂烯、 β -罗勒烯、芳樟醇、2-萜烯(含量均大于98%) 美国Sigma-Aldrich公司。

1.2 仪器与设备

7890A-5975C气质联用仪 美国Agilent科技公司;
动态顶空进样系统(Itex进样模块) 瑞士CTC公司;
Sniffer 9000嗅味检测仪 瑞士Brechtöhler公司。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理

取10.0g西湖龙井茶样品放入150mL烧杯中,加入50.0mL沸水(超纯水)冲泡,加盖保温15min。然后移取6mL茶汤于已加入1.9g氯化钠(分析纯)的20mL顶空瓶中,压盖密封。

1.3.2 仪器分析条件

Itex条件:平衡温度80℃,平衡时间1200s,振荡速度500r/min,进样针温度85℃,抽提体积2mL,抽提次数100次,抽提速度200 μ L/s,解析温度230℃,解析速度20 μ L/s,洗针温度250℃,洗针时间300s^[6]。

色谱条件:DB-5 MS毛细管色谱柱(30m $\times$ 0.25mm, 0.25 μ m);载气(He)流速1.5mL/min,不分流进样,进样口温度100℃;柱温:起始温度40℃,保持2min,然后以4℃/min升温至180℃,再以8℃/min升温至245℃,保持5min。

质谱条件:接口温度280℃,离子源温度230℃,电离方式EI,电子能量70eV,扫描质量范围45~300u,通过Agilent-MSD Chemstation工作站进行数据采集和处理。

1.3.3 西湖龙井茶香气成分的确定

采用质谱(谱库检索)、相对保留指数(retention index,

RI)和嗅闻3种方法确定西湖龙井茶的挥发性成分^[14]。

首先采用总离子流(total ion current, TIC)图谱中的色谱峰处的质谱图减去相应基线处的质谱图得到目标化合物的质谱图,应用Nist 08谱库进行谱库检索,结合匹配度、碎片离子的相对丰度和提取离子判别峰纯度综合初步判定目标化合物;采用相同的升温程序,以C₈~C₂₀正构烷烃作为标准,计算目标化合物的RI,与文献报道的保留指数进行比较,进而确认目标化合物;通过嗅辨员对嗅味检测仪流出的组分进行嗅闻,记录下目标化合物的嗅闻时间和气味特征,进一步确认目标化合物。

1.3.4 西湖龙井茶特征香气成分的确定

本研究中由5名嗅辨员组成GC-O评价小组,其中4名女性、1名男性,年龄在20~32之间,实验前均通过了17种香气标准样品的单体训练,识别率在80%以上。每个样品每个嗅辨员嗅闻3次,采用三点标度法,即:弱(1)、中(2)、强(3),这样就得到了5 $\times$ 3=15份数据用于统计分析,若某一嗅感物质在这15次嗅闻中有9次以上被嗅闻到,且其嗅闻强度在2以上至少有7次,即被认为是西湖龙井茶的特征香味物质。

2 结果与分析

2.1 西湖龙井茶的香气成分及总离子流色谱图

对所有西湖龙井茶样品进行GC-MS检测,其中共同检出的香气成分有43种见表1,总离子流色谱图见图1。主要香气成分中烯烃类物质14种,醇类物质9种,酮6种,醛类物质4种,杂环类4种以及硫化物2种。

其中萜类物质包括:萜烯类,通式为(C₅H₈)_n的链状或环状烯烃,如单环萜:柠檬烯、萜品油烯;无环萜:罗勒烯,月桂烯;倍半萜:杜松油烯,菖蒲萜烯等;萜烯醇类,如芳樟醇、香叶醇、 α -松油醇等。萜烯醇类物质被认为是在龙井茶加工过程中由 β -葡萄糖苷酶参与产生的香气物质^[15],对龙井茶香气的形成有重要的作用,芳樟醇具有铃兰系清淡爽快的花香,香叶醇具有蔷薇系温和的花香,且这两种物质互为异构体,芳樟醇在热催化作用下会异构化生成香叶醇^[16]。

酮类物质主要包括顺-茉莉酮、 β -紫罗兰酮、大马酮等,推测由 β -胡萝卜素的氧化降解形成^[17]。杂环类中的吡嗪化合物通常认为是茶叶中的氨基酸与儿茶素等发生Maillard反应的产物,带有焦糖一类的香气^[18]。二甲硫醚在茶叶香气成分分析中鲜有报道,据研究它由茶叶炒制过程中甲基蛋氨酸硫酸盐受热分解产生,可与残留的青叶醇共存形成绿茶的“新茶香”^[19],这种特殊的茶香会随着茶叶储藏期的延长而挥发散失,使绿茶丧失了新茶的香味。

表1 西湖龙井茶挥发性香气成分鉴定列表

Table 1 Volatile aromatic components identified by GC-MS in Xihu Longjing tea

峰号	保留时间/min	RI	化合物	定性方法
1	3.45	—	二甲硫醚	MS、O
2	8.35	801	3-己烯-2-酮	MS
3	8.78	814	1-乙基吡咯	MS、RI
4	10.26	855	顺-3-己烯-1-醇	MS、RI
5	10.74	869	1-己醇	MS、RI、O
6	11.21	882	2,6-二甲基-1,5-庚二烯	MS
7	11.48	890	2-庚酮	MS、RI
8	11.93	903	庚醛	MS、RI、O
9	12.16	909	3-甲硫基丙醛	RI、O
10	12.51	918	2-乙基苯酚	MS
11	14.22	962	苯甲醛	MS、RI
12	14.50	970	二甲基三硫	MS、RI
13	14.86	979	1-辛烯-3-醇	MS、RI、O
14	15.22	989	β -月桂烯(香叶烯)	MS、RI、O
15	15.49	996	β -萜烯	MS、RI
16	15.71	1001	2-乙基-5-甲基吡嗪	MS、RI
17	15.91	1007	α -水芹烯	MS、RI
18	16.32	1018	<i>p</i> - α -二甲基苯甲醇	MS
19	16.60	1025	异丙基甲苯	MS、RI
20	16.79	1030	柠檬烯	MS、RI
21	16.97	1035	(Z)- β -罗勒烯	MS、RI
22	17.38	1046	(E)- β -罗勒烯	MS、RI
23	17.87	1059	γ -松油烯	MS、RI
24	18.14	1066	苯乙酮	MS、RI
25	18.27	1069	1-辛醇	MS、RI
26	18.34	1071	2-呋喃甲醇	MS、O
27	18.48	1075	3-乙基-2,5-二甲基吡嗪	MS、RI、O
28	18.90	1086	萜品油烯	MS、RI
29	19.43	1100	芳樟醇	MS、RI、O
30	19.84	1111	对氨基苯甲醚	MS、O
31	21.79	1165	苯酚	MS
32	22.12	1174	1,3,8-孟三烯	MS
33	22.60	1187	蒽	MS
34	22.92	1196	α -松油醇	MS、RI、O
35	23.63	1217	3,4-二甲基苯甲醛	MS、RI
36	24.11	1231	2-萜烯	MS
37	24.72	1249	香叶醇	MS、RI、O
38	26.83	1311	依杜兰I	MS
39	29.04	1379	大马酮	MS、RI
40	29.47	1393	顺-茉莉酮	MS、RI、O
41	32.10	1474	β -紫罗兰酮	MS、RI、O
42	33.44	1523	杜松烯	MS、RI
43	34.15	1548	菖考烯(菖蒲萜烯)	MS、RI

注：“—”表示超出相对保留值计算范围，下同。鉴定方式中，MS为化合物经质谱鉴定，RI为实测RI与文献[20]查阅吻合，O为化合物经嗅闻鉴定。

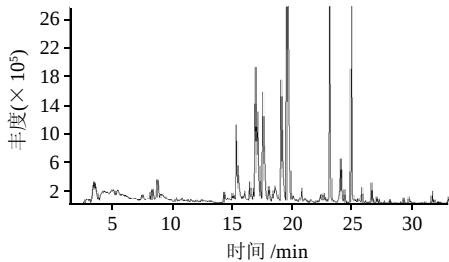


图1 西湖龙井茶香气总离子流色谱图

Fig.1 Total ion chromatogram of Xihu Longjing tea

2.2 西湖龙井茶的嗅闻结果和特征香气成分的确定

评价小组通过GC-O系统嗅辨出18种嗅感物质，如表2所示，其中有两种风味物质在质谱仪上并未检出，相对DB-5柱的RI值分别为940和1219。在已鉴定的成分中，按照检测次数和检测强度可以划分为3个梯度：第1梯度为二甲硫醚、2-甲硫基丙醛、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、芳樟醇、 α -松油醇、香叶醇、顺-茉莉酮等7种成分的检测次数均大于9，且强度大于等于2的次数大于7，可认为是西湖龙井茶的特征香气成分；第2梯度为1-己醇、庚醛、 β -月桂烯、对氨基苯甲醚、2-萜烯，检测次数均大于7，且强度大于等于2的次数大于3；其余为第3梯度，检测次数和强度均较小。

通过评价小组的嗅闻，并进行小组讨论，认为西湖龙井茶的香气主要可以归结为5个大类：第1类为最先嗅闻到的新茶香，清鲜并带有些醇香，主要成分为二甲硫醚；第2类为炒香类，由炒瓜子、煮土豆等嗅感组成；第3类为花香类，最明显的就是铃兰花香和玫瑰花香，另外还包括不太显著的甜香；第4类为烘焙厚重味，如吡嗪类的烘焙巧克力味；第5类为尖锐刺激的松节油味。这5类气味共同组成了西湖龙井的香气特征。

表2 西湖龙井茶嗅闻结果

Table 2 Results of GC-olfactometry analysis of volatile aromatic components of Xihu Longjing tea

峰号	保留时间/min	RI	化合物	香气描述	检测频率/人	强度大于等于2的次数
1	3.45	—	二甲硫醚	新茶香	15	8
2	8.35	801	3-己烯-2-酮	果香	2	0
5	10.74	869	1-己醇	炒瓜子	8	3
8	11.93	903	庚醛	树皮	7	4
9	12.16	909	3-甲硫基丙醛	煮土豆	9	7
u ₁	13.45	940	未知	炒香	10	7
13	14.86	979	1-辛烯-3-醇	蘑菇	6	0
14	15.22	989	β -月桂烯(香叶烯)	花香	8	5
22	17.38	1046	(E)- β -罗勒烯	甜香	4	2
27	18.48	1075	3-乙基-2,5-二甲基吡嗪	巧克力	13	10
29	19.43	1100	芳樟醇	铃兰	15	12
30	19.84	1111	对氨基苯甲醚	丁香	7	3
34	22.92	1196	α -松油醇	松节油	13	10
u ₂	23.73	1219	未知	酱香	11	8
36	24.11	1231	2-萜烯	甜香	8	4
47	24.72	1249	香叶醇	玫瑰花香	15	13
40	29.47	1393	顺-茉莉酮	茉莉	13	9
41	32.1	1474	β -紫罗兰酮	甜香	5	1

注：u₁、u₂分别代表该物质在质谱仪上未检出，但有嗅感。

3 结 论

应用直接冲泡、顶空Itex进样，质谱与嗅辨员同时检测的方法对西湖龙井茶的香气进行分析研究。GC-

MS 分析得到了西湖龙井茶 43 种挥发性呈香成分, 由 5 名嗅辨员组成的评价小组在质谱检测的同时, 记录了系统流出物的气味特征以及强度, 结合频率分析方法初步确定西湖龙井茶特征的香气成分, 分别为二甲硫醚、2-甲硫基丙醛、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、芳樟醇、 α -松油醇、香叶醇和顺-茉莉酮。通过直接冲泡和顶空 Itex 进样不仅保留了西湖龙井茶的“原香”, 也得到了较为丰富的成分信息, 为西湖龙井茶香气的进一步研究提供了方法支持和数据参考。另外由于茶叶的香气受树种、气候和加工过程中多种因素等的影响, 通过对不同年份的茶叶进行跟踪研究可进一步完善此项工作。

参考文献:

- [1] 浙江省质量技术监督局. GB 18650—2002 原产地域产品: 龙井茶[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [2] 龚淑英. 名优绿茶感官审评方法及技术要点[J]. 中国茶叶加工, 2000(3): 44-46.
- [3] 代毅, 须海荣. 采用 SPME-GC/MS 联用技术对龙井茶香气成分的测定分析[J]. 茶叶, 2008, 34(2): 85-88.
- [4] IWABUCHI H, IMAYOSHI Y, YOSHIDA Y, et al. Gas chromatography-olfactometry[M]. Washington DC: ACS Symposium, 2001: 11-22.
- [5] 夏玲君, 宋焕禄. 香味检测技术: GC/O 的应用[J]. 分析与检测, 2006, 32(1): 83-87.
- [6] 罗婷. 茶汤特征香气成分的鉴定与品质评价研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2009.
- [7] JACQUES R A, DARIVA C, De OLIVEIRA J V, et al. Pressurized liquid extraction of mate tea leaves[J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 625(1): 70-76.
- [8] BICCHI C, CORDERO C, LIBERTO E, et al. Automated headspace solid-phase dynamic extraction to analyse the volatile fraction of food matrices[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1024(1/2): 217-226.
- [9] BROHAN M, HUYBRIGHS T, WOUTERS C, et al. Influence of storage conditions on aroma compounds in coffee pads using static headspace GC-MS[J]. Food Chemistry, 2009, 116(2): 480-483.
- [10] CAMPILLO N, PENALVER R, LOPEZ-GARCIA I, et al. Headspace solid-phase microextraction for the determination of volatile organic sulphur and selenium compounds in beers, wines and spirits using gas chromatography and atomic emission detection[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(39): 6735-6740.
- [11] 窦洪亮, 李春美, 顾海峰, 等. 采用 HS-SPME/GC-MS/GC-Olfactometry/RI 对绿茶和绿茶鲜汁饮料香气的比较分析[J]. 茶叶科学, 2007, 27(1): 51-60.
- [12] ZELLNER B A, DUGOB P, DUGOA G, et al. Gas chromatography-olfactometry in food flavour analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1186(1/2): 123-143.
- [13] 张青, 王锡昌, 刘源. GC-O 法在食品风味分析中的应用[J]. 食品科学, 2009, 30(3): 284-287.
- [14] GROSCH W. Evaluation of the key odorants of food by dilution experiments, Aroma models and omission[J]. Chemical Senses, 2001, 26(5): 533-545.
- [15] 骆耀平, 童启庆, 屠幼英, 等. 龙井茶摊放过程中 β -葡萄糖苷酶活性变化[J]. 茶叶科学, 1999, 19(2): 136-138.
- [16] 王华夫. 茶叶香型与芳香物质[J]. 中国茶叶, 1989(2): 16-17.
- [17] 郭雯飞. 茶叶香气生成机理的研究[J]. 中国茶叶加工, 1996(4): 34-37.
- [18] 沈生荣, 杨贤强. 不同等级龙井茶香气成分的研究[J]. 福建茶叶, 1989(4): 26-30.
- [19] 陈宗懋. 中国茶叶大辞典[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000: 301-333.
- [20] The LRI database on the web[EB/OL]. [2011-04-11]. <http://www.odowr.org.uk/lriindex.html>.