

β-葡萄糖苷酶和 α-L-鼠李糖苷酶对速溶绿茶粉水溶液香气的影响

方可¹, 李婷¹, 朱艳冰^{1,2,3}, 黄高凌^{1,2,3}, 杨远帆^{1,2,3}, 倪辉^{*1,2,3}

(1. 集美大学 食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省食品微生物与酶工程重点实验室, 福建 厦门 361021; 3. 厦门市食品生物工程技术研究中心, 福建 厦门 361021)

摘要: 速溶茶粉是重要的茶叶深加工产品, 酶工程技术是改良速溶茶粉及其加工产品风味的重要途径。为了解 β-葡萄糖苷酶和 α-L-鼠李糖苷酶对速溶绿茶粉水溶液香气的影响, 运用感官检验、气相色谱-质谱联用(GC-MS)、香气强度值(OAV)方法对酶处理前后的速溶绿茶粉水溶液进行分析。感官评价和 GC-MS 分析发现, 速溶绿茶粉水溶液主要呈焦糖香和甜香; β-葡萄糖苷酶处理后花香、甜香和青草香显著增强, 焦糖香降低, 顺式-3-己烯醇、香叶醇、己醇、水杨酸甲酯和苯甲醛这些重要的挥发性化合物的含量显著增加; α-L-鼠李糖苷酶处理后速溶绿茶粉水溶液中焦糖香显著降低; 两种酶结合处理后青草香和甜香进一步增强, 顺式-3-己烯醇和水杨酸甲酯的含量进一步增加。OAV 分析发现, 速溶绿茶粉水溶液主要香气贡献成分为 3-甲基丁醛、2-甲基丁醛、2-乙基呋喃、柠檬烯和壬醛; β-葡萄糖苷酶处理后主要香气贡献成分为顺式-3-己烯醇、水杨酸甲酯、香叶醇和癸醛; α-L-鼠李糖苷酶对速溶绿茶粉水溶液各成分的 OAV 值没有显著影响; 两种酶联合处理可进一步增强顺式-3-己烯醇的 OAV 值。以上研究表明 β-葡萄糖苷酶可显著改变速溶绿茶粉水溶液的香气, 且 α-L-鼠李糖苷酶与 β-葡萄糖苷酶对增强速溶绿茶粉水溶液的青草香具有协同增效作用, 为改良速溶茶粉加工食品的风味提供了技术参考。

关键词: 速溶绿茶粉; β-葡萄糖苷酶; α-L-鼠李糖苷酶; 感官分析; 挥发性化合物; 香气强度值
中图分类号: TS 207.3 **文献标志码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.01.006

Effects of β-Glucosidase and α-L-Rhamnosidase on the Aroma of Instant Green Tea Infusion

FANG Ke¹, LI Ting¹, ZHU Yanbing^{1,2,3}, HUANG Gaoling^{1,2,3}, YANG Yuanfan^{1,2,3}, NI Hi^{*1,2,3}

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Key Laboratory of Food Microbiology and Enzyme Engineering Technology of Fujian Province, Xiamen 361021, China; 3. Research Center of Food Biotechnology of Xiamen City, Xiamen 361021, China)

Abstract: Instant tea is the most important value-added tea product; and enzyme biotechnology is an important approach to improving the aroma of instant tea. To investigate the effect of β-glucosidase

收稿日期: 2018-11-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(31871765); 福建省自然科学基金项目(2017J01581)。

* 通信作者: 倪辉(1973—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品酶学与食品风味研究。E-mail: nihui@jmu.edu.cn

引用本文: 方可, 李婷, 朱艳冰, 等. β-葡萄糖苷酶和 α-L-鼠李糖苷酶对速溶绿茶粉水溶液香气的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(01): 36-44.

and α -L-rhamnosidase on the aroma profile of instant green tea infusion, sensory evaluation, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and OAV were used to analyze the instant green tea infusion and after enzyme-treated. Sensory evaluation and GC-MS analysis showed that the caramel and sweet notes were significantly in instant green tea infusion; the floral, sweet and grassy notes were significantly enhanced, caramel notes was reduced, cis-3-hexenol, geraniol, hexanol methyl salicylate and benzaldehyde were significantly increased by treated β -glucosidase; the caramel note were reduced by treated α -L-rhamnosidase; the notes of grass and sweet were further enhanced, and the contents of cis-3-hexenol and methyl salicylate were further increased by treated binding of β -glucosidase and α -L-rhamnosidase. OAV analysis found that 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 2-ethylfuran, limonene and nonanal were main aroma contribution component in instant green tea infusion; cis-3-hexenol, methyl salicylate, geraniol and furfural were main aroma contribution component by treatment with β -glucosidase; the main aroma contribution components was no significant effect by treatment with α -L-rhamnosidase; the OAV of cis-3-hexenol was further increased by treatment with β -glucosidase and α -L-rhamnosidase. These studies showed that β -glucosidase has significant effect on the aroma profile of instant green tea infusion and two enzymes have synergism to enhance green note, which provides a technological reference for improving the aroma quality of instant tea based foods.

Keywords: Instant green tea power, β -glucosidase, α -L-rhamnosidase, volatile component, sensory evaluation, Odour active value

速溶茶粉是以成品茶叶为原料,经水提取、浓缩、干燥等工艺加工而成的可溶性粉状物质^[1],它是重要的茶叶深加工产品,是加工茶饮料、茶糕点等食品的原料。依据原料茶叶的不同,速溶茶一般可分为速溶红茶、速溶绿茶、速溶乌龙茶、速溶白茶、速溶黄茶、速溶黑茶、速溶花茶、速溶调配茶等^[2]。在速溶茶粉提取生产过程中,由于原料茶叶香气成分的挥发及降解和氧化^[3],导致速溶茶粉及其加工产品的香气远远不如原料茶叶。人们先后研究了多种改良速溶茶粉质量的技术,如膜分离技术、低温浓缩技术、香气回填技术等^[4-5]。此外,人们发现茶叶产品中含有香气前体,在酶的作用下可释放出香气成分,该方法具有特异性,对其他品质成分影响小^[6];因此,酶工程技术是改良速溶茶粉及其加工产品(茶饮料)风味的重点研究领域。

相关研究表明,茶叶中的香气前体主要是糖苷类物种,包括单糖苷和二糖苷^[7]。 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase, EC 3.2.1.21)和 α -L-鼠李糖苷酶(α -L-rhamnosidase, EC 3.2.1.40)是两种重要的糖苷酶,其中 β -葡萄糖苷酶水解结合于非还原性末端的 β -D-葡萄糖苷键^[8]; α -L-鼠李糖苷酶水解末端 α -L-

鼠李糖苷键^[9]。近年来,人们发现黑曲霉胞外粗酶可提高速溶茶粉水溶液及茶饮料香气物质含量^[10-11],并研究了 β -葡萄糖苷酶对茶饮料香气的影响^[12],但尚未系统研究 β -葡萄糖苷酶和 α -L-鼠李糖苷酶以及这两种酶的协同作用对速溶茶粉水溶液及茶饮料等产品香气的影响。

针对以上研究现状,以我国产量最大的速溶茶粉——速溶绿茶粉为原料,分别用 β -葡萄糖苷酶、 α -L-鼠李糖苷酶以及混合酶对速溶绿茶粉水溶液进行处理,综合运用GC-MS、感官评价和风味强度值(OAV)分析等方法评价香气特征变化,旨在阐明 β -葡萄糖苷酶和 α -L-鼠李糖苷酶对速溶绿茶粉水溶液香气的改良效果,为提高速溶茶粉加工产品的风味提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

喷干型速溶绿茶粉:购于大闽(漳州)食品有限公司; β -葡萄糖苷酶:购于上海源叶生物科技有限公司;黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶:作者所在实验室按照表达纯化制备得到。环己酮、正构烷烃(C8-20)、

2-甲基呋喃、2-乙基呋喃、N-乙基吡啶、芳樟醇、壬醛、癸醛、反式- β -罗勒烯、 α -蒎品烯、蒎品油烯、 γ -蒎品烯、2-庚酮、 α -蒎烯、蒎烯、 β -香叶烯、水芹烯、2-壬酮、 α -法尼烯;购于美国 Sigma 公司;香叶醇、苯甲醛、藏花醛、顺式-3-己烯醇、水杨酸甲酯、2-甲基丁酸己酯、伞花烃、柠檬烯、反式- β -罗勒烯、己醇;购于英国 Alfa Aesar 公司。

1.2 主要仪器

手动 SPME 进样器和 50/30 μ m DVB/CAR/PDMS 萃取头:美国 Supelco 公司产品;Rtx-5MS 色谱柱;美国 Restek 公司产品;QP 2010 气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS):成都岛津仪器设备有限公司(成都)产品;RO-03A 制冰机;日欧制冷设备有限公司(深圳)产品;GZX-DH 电热恒温干燥箱;上海跃进医疗器械厂(上海)产品。

1.3 实验方法

1.3.1 样品的制备 速溶绿茶粉水溶液 (IGT):称取 3 g 速溶绿茶粉于 60 mL 顶空瓶中,加入 30 mL 纯水,在 40 $^{\circ}$ C 水浴锅中保温; β -葡萄糖苷酶处理后的速溶绿茶粉水溶液 (GIGT):称取 3 g 速溶绿茶粉于 60 mL 顶空瓶中,加入 30 mL 纯水和 β -葡萄糖苷酶 (10 U),在 40 $^{\circ}$ C 水浴锅中保温; α -L-鼠李糖苷酶处理后速溶绿茶粉水溶液 (LIGT):称取 3 g 速溶绿茶粉于 60 mL 顶空瓶中,加入 30 mL 纯水和 α -L-鼠李糖苷酶 (13 U),在 40 $^{\circ}$ C 水浴锅中保温; β -葡萄糖苷酶和 α -L-鼠李糖苷酶混合酶处理后的速溶绿茶粉水溶液 (GLIGT):称取 3 g 速溶绿茶粉于 60 mL 顶空瓶中,加入 30 mL 纯水和 β -葡萄糖苷酶 (10 U)、 α -L-鼠李糖苷酶 (13 U),在 40 $^{\circ}$ C 水浴锅中保温。

1.3.2 样品气味特征的感官评价 根据 ISO 8589 标准和相关文献方法对各样品的青草香、花香、甜香、木香和焦糖香进行感官评价^[11,14]。

1.3.3 样品中挥发性化合物的分析 样品在 40 $^{\circ}$ C 水浴锅中用 50/30 μ m DVB/CAR/PDMS 萃取头吸附 20 min 后进行固相微萃取顶空进样分析,解吸附时间为 3 min,GC-MS 分析条件参考文献^[13]。通过特征离子峰和保留指数与标准品、挥发性化合物谱库 (NIST08、NIST08s、FFNSC1.3) 以及参考文献进行对照后定性。其中,保留指数 (RI_x) 借鉴 Kratz 和 Vandendoo^[14]方法进行运算。对于 2-甲基呋喃和顺式-3-己烯醇等 27 种具有对照标准品的成分,根据

它们的标准曲线采用外标法进行定量;其余 10 种没有购买到对照标准品的成分通过内标环己酮标准曲线采用 SIM 模式 (特征碎片为 55) 进行相对定量分析。

1.3.4 挥发性成分香气强度值的计算 香气强度值 (OAV) 采用挥发性成分浓度除以该成分气味阈值的方式计算。

1.4 数据统计方法

通过 Excell 2013 (微软,美国) 计算平均值。采用 SPSS-IBM 19.0 (IBM,美国) 软件进行显著性分析和主成分分析。

2 结果与讨论

2.1 酶处理对香气感官特征的影响

如图 1 所示,IGT 以焦糖香和甜香为主,木香、花香及青草香较弱,此结果与相关研究报道的绿茶香气特征 (主要呈现青草香) 不一致^[15],其原因是速溶茶粉加工过程中香气成分发生了挥发、氧化及美拉德反应^[3]。相比 IGT,GIGT 的青草香及花香显著增强,焦糖香显著降低,整体香味以青草香、花香、甜香为主;LIGT 与 IGT 相比,焦糖香显著降低,但其他香气感官强度没有显著变化,整体香气以焦糖香和甜香为主;GLIGT 的焦糖香是所有样品中最低的,且青草香和花香是所有样品中最强的,其整体风味呈现出浓郁青草香和甜香以及显著的花香。对酶处理前后速溶绿茶粉水溶液花香、青草香、甜香、木香和焦糖香进行主成分分析,其结果如图 2 所示。其中,主成分 1 (PC 1) 代表 63.86% 的总变量值,其与甜香、花香、青草香和木香的感官强度数值呈正相关,而与焦糖香感官强度值呈现负相关 (图 2(a))。主成分 2 (PC 2) 与木香、花香和焦糖香的感官评价数值呈现正相关,与甜香和青草香数值呈现负相关,可解释 16.96% 的总变量 (图 2(a))。主成分散点图显示 4 种样品的香气特征可归为两类 (图 2(b)),其中 IGT 与 LIGT 同属一类,GIGT 与 GLIGT 同属一类,此结果表明, β -葡萄糖苷酶处理会导致速溶绿茶粉水溶液的整体香气特征显著变化,可将速溶绿茶粉水溶液的香气由焦糖香为主转变成以青草香和甜香为主。Zhu 等人研究表明黑曲霉胞外酶处理速溶绿茶粉水溶液,可增强花香和发酵香,同时减弱青草香、木香和甜香减弱^[10];Ni 等人研究发现用黑曲霉胞外酶处理绿茶水溶液,其烘烤香和蘑菇香

增强,同时青草香、焦糖香和木香减弱^[13]。这些相关研究与本研究结果显著不同,其原因是相关研究采用的黑曲霉胞外粗酶液的的酶种类复杂,而作者采用了纯化的 β -葡萄糖苷酶及 α -L-鼠李糖苷酶。

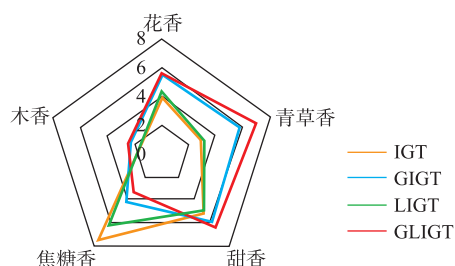


图1 IGT、GIGT、LIGT 和 GLIGT 感官评价雷达图

Fig. 1 Radar map of the sensory evaluations of IGT, GIGT, LIGT and GLIGT

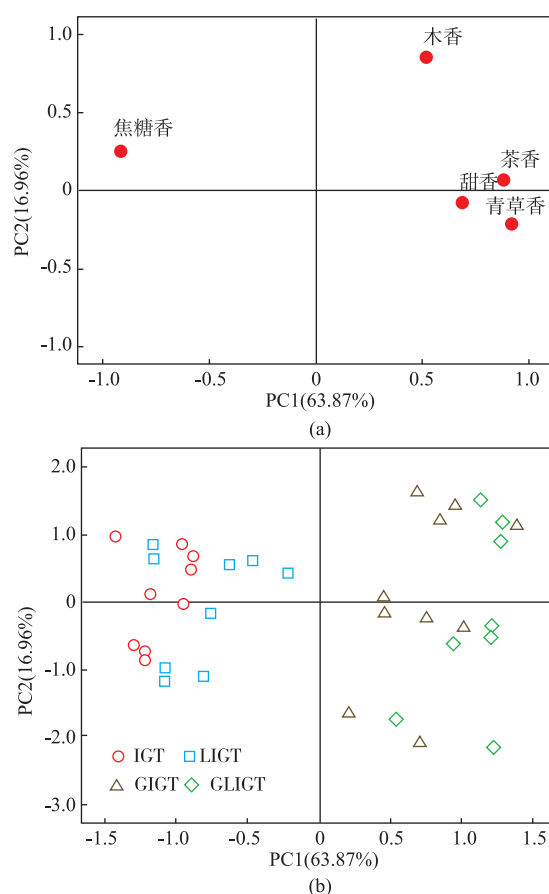


图2 感官评价的主成分及得分散点图

Fig. 2 Principal components and scatter plot of sensory evaluation scores

2.2 酶处理对挥发性成分组成的影响

采用 GC-MS 对速溶绿茶粉水溶液及其不同酶处理样品中的挥发性物质进行分析,得到总离子流图(图3),依据相似度检索、特征离子碎片分析和标准品比对等方法进行定性分析,共鉴定出 37 种挥发性成分(表1)。这些化合物包括 3 种呋喃类物质、6 种醛类物质、4 种醇类物质、3 种酯类物质、3 种酮类物质、14 种烯烃类物质和 4 种其它物质。

定量分析结果(表2)显示,IGT 的主要挥发性化合物为 3-甲基丁醛 (354.66 $\mu\text{g/L}$)、2-甲基丁醛 (583.44 $\mu\text{g/L}$)、壬醛 (219.46 $\mu\text{g/L}$)、2-乙基己基水杨酸 (411.64 $\mu\text{g/L}$)、N-吡啶 (994.08 $\mu\text{g/L}$)、2,6-二叔丁基对苯酚 (2 135.05 $\mu\text{g/L}$),此结果与 Qin 等人^[16]报道的中国绿茶的主要挥发性化合物是正戊醛、正己醛、柠檬烯、苯甲醛、壬醛、 α -萜品醇、水杨酸甲酯、香叶醇和橙花叔醇的结果以及 Wu 等人^[17]报道的武夷绿茶特征香气成分为芳樟醇、香叶醇、顺式-茉莉酮、 δ -杜松烯、依兰烯、 α -雪松烯和 β -石竹烯的结果不成一致,主要原因是速溶茶粉在加工过程中发生氧化、缩合、聚合和基团转移等反应^[1,18]。

GIGT 中共检测出 37 种挥发性化合物,主要为 2-甲基丁醛 (404.52 $\mu\text{g/L}$)、壬醛 (254.94 $\mu\text{g/L}$)、顺式-3-己烯醇 (3 443.81 $\mu\text{g/L}$)、香叶醇 (1 803.23 $\mu\text{g/L}$)、 δ -杜松烯 (392.11 $\mu\text{g/L}$)、 α -去二氢莒蒲烯 (4 10.61 $\mu\text{g/L}$)、2-乙基己基水杨酸 (577.69 $\mu\text{g/L}$)、2,6-二叔丁基对苯酚 (3 673.16 $\mu\text{g/L}$) (表2)。相比 IGT 中的挥发性化合物,GIGT 中顺式-3-己烯醇 (0.00 vs 3 443.81 $\mu\text{g/L}$)、香叶醇 (0.00 vs 1 803.23 $\mu\text{g/L}$)、己醇 (0.00 vs 124.68 $\mu\text{g/L}$)、水杨酸甲酯 (0.00 vs 134.25 $\mu\text{g/L}$)、苯甲醛 (0.00 vs 104.54 $\mu\text{g/L}$)、癸醛 (0.00 vs 95.77 $\mu\text{g/L}$)、壬醛、2-十一酮、2-乙基己基水杨酸、 α -去二氢莒蒲烯、 δ -杜松烯、2,6-二叔丁基对苯酚和 3,5-二甲基苯酚的含量显著增加,但 3-甲基丁醛、2-甲基丁醛和 N-吡啶的含量显著减少。LIGT 中共鉴定出 32 种挥发性化合物,相对于 IGT,其癸醛 (0.00 vs 122.05 $\mu\text{g/L}$)、壬醛 (219.46 vs 351.0 $\mu\text{g/L}$)、2-乙基己基水杨酸 (411.64 vs 674.55 $\mu\text{g/L}$) 等含量显著增加。GLIGT 中鉴定出 37 种挥发性化合物,其主要挥发性化合物与 GIGT 中一致,但顺式-3-己烯醇 (3 443.81 vs 4 017.11 $\mu\text{g/L}$)、水杨酸甲酯 (134.25 vs 172.66 $\mu\text{g/L}$)、壬醛 (254.94 vs 290.6 $\mu\text{g/L}$)、癸醛 (95.77 vs 122.05 $\mu\text{g/L}$) 和 2-十一

酮(127.86 vs 256.41 $\mu\text{g/L}$)、2,6-二叔丁基对苯酚(3 673.16 vs 4 490.56 $\mu\text{g/L}$)含量进一步提高。以上结果表明, β -葡萄糖苷酶可显著增加速溶绿茶粉水溶液中多种挥发性成分的含量, α -L-鼠李糖苷酶也可以增加一些挥发性成分的含量,且它们对速溶绿茶粉水溶液的挥发性成分的增加存在协同增效作用。

根据相关研究报道, β -葡萄糖苷酶处理可显著增加绿茶汤中顺式-3-己烯醇、水杨酸甲酯和芳香族醇含量^[12];漆酶和 α -半乳糖苷酶处理可显著增加绿茶溶液中壬醛含量^[9]。作者用 β -葡萄糖苷酶处理速溶绿茶粉水溶液,该结果与其他学者相关研究结果相似。此外,本研究发现 α -L-鼠李糖苷酶也能增加速溶绿茶粉水溶液的挥发性物质成分,同时 α -L-鼠李糖苷酶和 β -葡萄糖苷酶在增加速溶绿茶粉挥发性成分方面具有协同增效作用;这两方面的尚

未见同类研究报道。

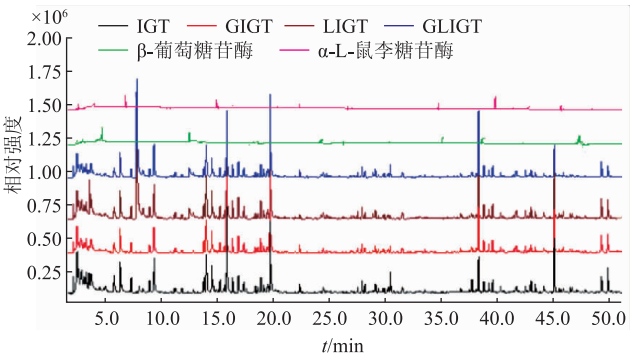


图 3 IGT、GIGT、LIGT、GLIGT、 β -葡萄糖苷酶和 α -L-鼠李糖苷酶挥发性化合物总离子流图

Fig. 3 Total ion chromatogram (TIC) of the volatiles in IGT,LIGT,GIGT,GLIGT, β -glucosidase and α -L-rhamnosidase solution

表 1 IGT、GIGT、LIGT、GLIGT 中挥发性成分的鉴定及标准曲线

Table 1 Identification and standard curves of volatile compounds in IGT、GIGT、LIGT、GLIGT

序号	名称	RI _x ^a	RI _x ^b	鉴定依据	CI	标准曲线	R ²	质量浓度/($\mu\text{g/L}$)
1	2-甲基呋喃	—	608	MS Std	828 253	$Y=11.088X-1.347\ 995$	0.997 5	20~2 000
2	3-甲基丁醛	—	653	MS	448 671	SCIS		
3	2-甲基丁醛	—	663	MS	4 186	SCIS		
4	2-乙基呋喃	—	705	MS Std	819 653	$Y=13.728\ 91X-0.261\ 04$	0.995 9	20~2 000
5	2,4-二甲基呋喃	—	735	MS	966 753	SCIS		
6	N-乙基吡啶	814	812	MS Std	809 595	$Y=11.543X-0.921\ 03$	0.991 8	20~2 000
7	顺式-3-己烯醇	853	843	MS Std	4 167 100	$Y=1.440\ 291X+0.005\ 35$	0.999 5	40~4 000
8	己醇	868	861	MS Std	5 669 102	$Y=3.518\ 14X-0.109\ 75$	0.998 7	20~2 000
9	2-庚酮	892	898	MS Std	4 311 471	$Y=19.588\ 21X-1.494\ 70$	0.994 1	20~2 000
10	α -蒎烯	933	932	MS Std	9 313 677	$Y=167.887\ 9X-9.148\ 58$	0.999 1	20~2 000
11	3,5-二甲基苯酚	935	—	MS	1 227 943	SCIS		
12	蒎烯	948	944	MS Std	93 121 136	$Y=80.830\ 1X-5.130\ 62$	0.997 8	20~2 000
13	苯甲醛	960	966	MS Std	1 067 751	$Y=17.075\ 47X-1.310\ 57$	0.999 5	20~2 000
14	β -香叶烯	992	991	MS Std	4 113 693	$Y=254.439\ 1X-5.525\ 40$	0.999 1	20~2 000
15	α -水芹烯	1 004	1 004	MS Std	9 313 677	$Y=286.012\ 9X-10.261\ 55$	0.999 5	20~2 000
16	α -蒎品烯	1 017	1 021	MS Std	93 136 121	$Y=194.707\ 2X-7.320\ 85$	0.999 5	20~2 000
17	伞花烃	1 025	1 028	MS Std	11 913 491	$Y=502.698X-9.738\ 04$	0.996 9	20~2 000
18	柠檬烯	1 028	1 029	MS Std	6 813 693	$Y=322.737X-10.953\ 36$	0.999 3	20~2 000
19	顺式- β -罗勒烯	1 039	1 038	MS Std	9 313 679	$Y=255.887\ 7X-6.312\ 86$	0.998 8	20~2 000
20	反式- β -罗勒烯	1 049	1 048	MS Std	9 313 679	$Y=2.698\ 282X+0.051\ 76$	0.982 6	20~2 000
21	γ -蒎品烯	1 059	1 062	MS Std	9 313 677	$Y=389.066\ 5X-14.139\ 9$	0.999 4	20~2 000
22	蒎品油烯	1 089	1 086	MS Std	93 136 121	$Y=250.863\ 4X-10.473\ 02$	0.999 5	20~2 000
23	2-壬酮	1 094	1 093	MS Std	4 314 271	$Y=125.279X-0.717\ 11$	0.993 9	20~2 000
24	芳樟醇	1 101	1 104	MS Std	7 115 493	$Y=22.887\ 97X-1.704\ 38$	0.991 6	125~2 000
25	壬醛	1 106	1 107	MS Std	4 114 271	$Y=11.641\ 19X-0.617\ 70$	0.999 2	20~2 000
26	水杨酸甲酯	1 196	1 197	MS Std	12 015 292	$Y=1.078\ 35X-0.052\ 96$	0.996 9	62.5~2 000

续表 1

序号	名称	RI _x ^a	RI _x ^b	鉴定依据	CI	标准曲线	R ²	质量浓度/(μ g/L)
27	藏花醛	1 202	1 201	MS Std	10 791 150	$Y=36.323\ 6X-1.414\ 42$	0.998 5	20~2 000
28	癸醛	1 208	1 205	MS	57 119 156	SCIS		
29	2-甲基丁酸己酯	1 239	1 240	MS Std	10 318 657	$Y=99.097\ 15X-5.366\ 32$	0.999 1	20~2 000
30	香叶醇	1 258	1 253	MS Std	6 915 441	$Y=0.056\ 27X-0.003\ 29$	0.995 9	125~1 000
31	2-十一酮	1 296	1 294	MS	5 817 043	SCIS		
32	茶香螺烷	1 301	1 302	MS	13 819 496	SCIS		
33	α -法尼烯	1 512	1 511	MS Std	93 117 204	$Y=138.884\ 8X-11.044\ 57$	0.994 3	20~2 000
34	2,6-二叔丁基对苯酚	1 516	1 513	MS Std	19 120 657	$Y=0.442\ 52X-0.116\ 59$	0.999 3	20~2 000
35	δ -杜松烯	1 527	1 520	MS	161 159 204	SCIS		
36	α -去二氢菖蒲烯	1 548	1 541	MS	157 200 142	SCIS		
37	2-乙基己基水杨酸	1 813	1 816	MS	120 138 250	SCIS		

注:保留指数为 RI_x-5MS 色谱柱结果,RI_{xa} 是本研究测定值,RI_{xb} 为参考此网站:<http://www.flavornet.org/flavornet.html>,SCIS 为内部标准曲线来估计的浓度变化,Std 为标准品对照作为鉴定依据,MS 为质谱库(NIST08,NIST08s,FFNSC 1.3)搜索结果作为鉴定依据。

表 2 IGT、GIGT、LIGT、GLIGT 中挥发性化合物定量表

Table 2 Quantitative determination of volatile components of IGT、GIGT、LIGT、GLIGT

序号	类别	名称	IGT	GIGT	LIGT	GLIGT
1	呋喃类	2-甲基呋喃	188.22 $\pm$ 17.78 ^b	162.36 $\pm$ 1.73 ^a	168.71 $\pm$ 10.25 ^{ab}	168.66 $\pm$ 3.67 ^{ab}
2		2-乙基呋喃	67.53 $\pm$ 6.37 ^{ab}	60.40 $\pm$ 5.97 ^{ab}	54.85 $\pm$ 4.48 ^a	53.93 $\pm$ 1.88 ^a
3		2,4-二甲基呋喃	86.07 $\pm$ 8.27 ^{bc}	86.61 $\pm$ 6.22 ^{bc}	50.45 $\pm$ 5.83 ^a	75.28 $\pm$ 8.38 ^{ab}
		总计	341.82	309.37	274.01	297.87
4	醛类	3-甲基丁醛	354.66 $\pm$ 23.75 ^d	238.71 $\pm$ 9.82 ^a	258.00 $\pm$ 6.31 ^{ab}	233.38 $\pm$ 24.57 ^a
5		2-甲基丁醛	583.44 $\pm$ 35.62 ^c	404.52 $\pm$ 14.91 ^a	493.14 $\pm$ 8.27 ^b	426.68 $\pm$ 5.44 ^{ab}
6		苯甲醛	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	104.54 $\pm$ 5.44 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	109.39 $\pm$ 8.13 ^{bc}
7		壬醛	219.46 $\pm$ 3.93 ^a	254.94 $\pm$ 12.93 ^b	351.01 $\pm$ 13.74 ^d	290.6 $\pm$ 1.53 ^c
8		藏花醛	44.57 $\pm$ 0.59 ^a	45.55 $\pm$ 1.31 ^{ab}	43.52 $\pm$ 2.06 ^a	44.46 $\pm$ 2.65 ^a
9		癸醛	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	95.77 $\pm$ 6.53 ^c	64.54 $\pm$ 2.25 ^b	122.05 $\pm$ 8.06 ^d
		总计	1202.13	1144.03	1210.21	1226.56
10	醇类	顺式-3-己烯醇	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	3 443.81 $\pm$ 29.02 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	4 017.11 $\pm$ 54.94 ^c
11		己醇	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	124.68 $\pm$ 16.20 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	123.43 $\pm$ 12.16 ^b
12		芳樟醇	8.42 $\pm$ 3.42	8.53 $\pm$ 1.44	4.73 $\pm$ 0.51	8.78 $\pm$ 0.86
13		香叶醇	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	1 803.23 $\pm$ 33.85 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	1 621.00 $\pm$ 94.39 ^b
		总计	8.42	5371.72	4.73	5770.32
14	烯烃类	α -蒎烯	55.14 $\pm$ 0.10	54.98 $\pm$ 0.13	55.07 $\pm$ 0.16	55.01 $\pm$ 0.09
15		蒎烯	64.97 $\pm$ 0.32 ^a	64.60 $\pm$ 0.58 ^a	69.61 $\pm$ 0.60 ^b	69.35 $\pm$ 0.14 ^b
16		β -香叶烯	25.64 $\pm$ 0.92	26.73 $\pm$ 2.17	27.99 $\pm$ 1.98	27.59 $\pm$ 0.77
17		α -水芹烯	36.79 $\pm$ 0.26	36.67 $\pm$ 0.42	36.83 $\pm$ 0.20	36.96 $\pm$ 0.08
18		α -蒎品烯	39.21 $\pm$ 0.35	38.98 $\pm$ 0.56	39.30 $\pm$ 0.54	38.52 $\pm$ 0.02
19		柠檬烯	41.17 $\pm$ 1.67	40.10 $\pm$ 2.76	41.75 $\pm$ 2.58	42.21 $\pm$ 0.21
20		顺式- β -罗勒烯	26.19 $\pm$ 0.39	26.06 $\pm$ 0.66	26.38 $\pm$ 0.65	26.89 $\pm$ 0.26
21		反式- β -罗勒烯	127.65 $\pm$ 0.77 ^a	183.87 $\pm$ 13.08 ^b	213.98 $\pm$ 15.61 ^b	198.00 $\pm$ 18.66 ^b
22		γ -蒎品烯	37.29 $\pm$ 0.54	37.01 $\pm$ 0.29	37.20 $\pm$ 0.26	37.68 $\pm$ 1.2
23		蒎品油烯	43.41 $\pm$ 0.61 ^a	129.69 $\pm$ 2.05 ^b	43.43 $\pm$ 0.64 ^a	43.58 $\pm$ 0.31 ^a

续表 2

序号	类别	名称	IGT	GIGT	LIGT	GLIGT
24		α -法尼烯	80.46 $\pm$ 0.47	80.27 $\pm$ 0.41	80.44 $\pm$ 0.26	80.54 $\pm$ 0.10
25		δ -杜松烯	247.08 $\pm$ 9.35 ^a	392.11 $\pm$ 8.36 ^c	421.04 $\pm$ 33.58 ^c	323.95 $\pm$ 23.71 ^b
26		α -去二氢菖蒲烯	287.41 $\pm$ 0.32 ^a	410.61 $\pm$ 15.35 ^c	474.28 $\pm$ 4.44 ^d	357.82 $\pm$ 38.38 ^b
27		伞花烃	19.80 $\pm$ 0.12	19.70 $\pm$ 0.13	19.73 $\pm$ 0.09	19.93 $\pm$ 0.65
		总计	1112.41	1521.68	1567.82	1338.10
28	酮类	2-庚酮	79.88 $\pm$ 0.28 ^a	80.63 $\pm$ 1.48 ^a	79.42 $\pm$ 0.74 ^a	81.09 $\pm$ 0.90 ^{ab}
29		2-壬酮	7.80 $\pm$ 0.81	7.69 $\pm$ 0.35	7.83 $\pm$ 0.39	7.95 $\pm$ 0.28
30		2-十一酮	56.73 $\pm$ 8.72 ^a	127.86 $\pm$ 2.94 ^c	73.83 $\pm$ 1.34 ^b	256.41 $\pm$ 16.88 ^d
		总计	144.41	216.18	161.08	345.45
31	酯类	水杨酸甲酯	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	134.25 $\pm$ 3.85 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	172.66 $\pm$ 28.85 ^c
32		2-甲基丁酸己酯	54.61 $\pm$ 0.11	54.59 $\pm$ 0.04	54.73 $\pm$ 0.27	55.53 $\pm$ 0.30
33		2-乙基己基水杨酸	411.64 $\pm$ 22.39 ^a	577.69 $\pm$ 46.61 ^b	674.55 $\pm$ 10.10 ^b	632.85 $\pm$ 3.74 ^b
		总计	466.25	188.84	729.28	861.04
34	其它类	N-吡啶	994.08 $\pm$ 78.23 ^c	88.67 $\pm$ 14.03 ^a	176.86 $\pm$ 19.80 ^b	174.43 $\pm$ 11.61 ^b
35		3,5-二甲基苯酚	153.75 $\pm$ 10.55 ^a	216.68 $\pm$ 4.46 ^b	236.39 $\pm$ 0.21 ^{bc}	211.15 $\pm$ 14.98 ^b
36		茶香螺烷	238.77 $\pm$ 23.86 ^b	291.67 $\pm$ 5.69 ^c	291.21 $\pm$ 10.21 ^c	117.98 $\pm$ 12.42 ^a
37		2,6-二叔丁基对苯酚	2 135.05 $\pm$ 66.91 ^a	3 673.16 $\pm$ 15.62 ^b	3 887.23 $\pm$ 41.02 ^c	4 490.56 $\pm$ 171.54 ^d
		总计	3 541.45	4 270.18	4 611.42	5 014.05

注:每一行中,不同的字母(a,b)代表数值间存在着显著性差异($P < 0.05$)

2.3 酶处理对挥发性成分气味强度值(OVA)的影响

根据 GC-MS 检测到的挥发性成分浓度和相关文献报道的气味阈值,计算各成分的 OAV 值,结果如表 3 所示。IGT 中,3-甲基丁醛(OVA 1773.30)、2-甲基丁醛(OVA 583.44)、2-乙基呋喃(OVA 29.36)、柠檬烯(OVA 4.12)、壬醛(OVA 5.49)等成分的气味强度达到了正常人体嗅觉可以感知的强度(OAV 值大于 1)。它们分别呈现出可可味、杏仁味、柠檬味和青草香^[20-21],这与 IGT 主要呈现出焦糖香和甜香相符合。

GIGT 中 3-甲基丁醛(OVA 1193.55)、2-甲基丁醛(OVA 404.52)、2-乙基呋喃(OVA 26.26)、顺式-3-己烯醇(OVA 49.2)、柠檬烯(OVA 4.12)、壬醛(OVA 5.49)、香叶醇(OVA 45.05)、水杨酸甲酯(OVA 3.36)和癸醛(OVA 1.6)的气味强度可被正常人体嗅觉感知(OAV 值大于 1)(表 3)。这些物质分别呈现青草香、花香和甜香,该结果较好解释了 GIGT 的香气以青草香、花香、甜香为主。LIGT 中 3-甲基丁醛(OVA 1290.00)、2-甲基丁醛(OVA 493.14)、2-乙基呋喃(OVA 23.85)、柠檬烯(OVA 4.17)、壬醛(OVA 8.78)等成分的 OAV 值大于 1,说

明这些成分对其整体香气特征具有影响。LIGT 与 IGT 中各成分的 OAV 值十分相近,说明其主要气味贡献成分与 IGT 相比没有发生显著变化。GLIGT 中 3-甲基丁醛(OVA 1166.90)、2-甲基丁醛(OVA 426.68)、2-乙基呋喃(OVA 23.44)、顺式-3-己烯醇(OVA 57.39)、柠檬烯(OVA 4.22)、壬醛(OVA 7.26)、香叶醇(OVA 40.53)、水杨酸甲酯(OVA 4.32)和癸醛(OVA 2.03)成分的 OAV 值大于 1,说明这些成分对其整体香气特征具有影响;该结果与 GLIGT 显示出很强的青草香、花香和甜香相符合。另外,相对于 GIGT 来说,GLIGT 中具有青草香的挥发性化合物的 OAV 值明显增加,这就说明 α -L-鼠李糖苷酶与 β -葡萄糖苷在增强速溶绿茶粉水溶液青草香方面具有协同作用。

Ni 等人通过 GC-O 实验发现黑曲霉胞外粗酶可增加绿茶水溶液挥发性成分的气味稀释倍数^[13]。本研究发现 β -葡萄糖苷酶可提高速溶绿茶粉水溶液青草香和花香成分香气强度值,该结果与 Ni 等人的研究^[13]相似。同时,本研究还发现 α -L-鼠李糖苷酶与 β -葡萄糖苷对速溶绿茶粉水溶液青草香具有协同增强作用,该结果尚未见同类报道。

表 3 IGT、GIGT、LIGT 和 GLIGT 的香气强度值
Table 3 Odor activity values of IGT、GIGT、LIGT and GLIGT

序号	名称	阈值/($\mu\text{g/L}$)	IGT	GIGT	LIGT	GLIGT	气味特征
1	2-甲基呋喃	3 500 ^[20]	0.05	0.05	0.05	0.05	清香、青草香
2	3-甲基丁醛	0.2 ^[20]	1 773.30	1 193.55	1 290.00	1 166.90	麦芽味
3	2-甲基丁醛	1 ^[20]	583.44	404.52	493.14	426.68	可可味、杏仁味
4	2-乙基呋喃	2.3 ^[20]	29.36	26.26	23.85	23.44	清香、青草香
5	顺式-3-己烯醇	70 ^[20]	—	49.20	—	57.39	青草香
6	己醇	500 ^[20]	—	0.25	—	0.25	树脂味、花香、清香
7	2-庚酮	140 ^[20]	0.57	0.62	0.57	0.58	木香、果香
8	苯甲醛	750.9 ^[20]	—	0.14	—	0.15	杏仁味
9	伞花烃	80 ^[21]	0.25	0.25	0.25	0.25	油味、树脂味
10	柠檬烯	10 ^[21]	4.12	4.01	4.17	4.22	柠檬、青草香
11	顺式- β -罗勒烯	200 ^[21]	0.13	0.13	0.13	0.13	辣味、烧焦味
12	反式- β -罗勒烯	200 ^[21]	0.64	0.92	1.07	0.99	辣味、烧焦味
13	蒎品油烯	200 ^[21]	0.22	0.65	0.22	0.22	松木味
14	2-壬酮	130 ^[20]	0.06	0.05	0.06	0.06	果香
15	芳樟醇	10 ^[20]	0.84	0.85	0.47	0.88	花香
16	壬醛	40 ^[20]	5.49	6.37	8.78	7.26	油脂味、橘子味、清香味
17	水杨酸甲酯	40 ^[20]	—	3.36	—	4.32	薄荷味
18	癸醛	60 ^[20]	—	1.6	1.07	2.03	甜香
19	香叶醇	40 ^[20]	—	45.08	—	40.53	花香
20	α -法呢烯	NA ^[22]	—	—	—	—	木香、甜香

3 结 语

速溶绿茶粉水溶液主要呈现甜香与焦糖香。 β -葡萄糖苷酶处理可显著增强速溶绿茶粉水溶液的花香和青草香; α -L-鼠李糖苷酶处理可降低速溶绿

茶粉水溶液的焦糖香; β -葡萄糖苷酶和 α -L-鼠李糖苷酶对提高速溶绿茶粉水溶液的青草香具有协同增效作用。该研究为利用 β -葡萄糖苷酶和 α -L-鼠李糖苷酶提高茶饮料、茶糕点等产品的风味提供了基础。

参考文献:

- [1] CHEN Huijuan, LI Ruili, TONG Huarong. The research progress of aroma recovery and flavoring technology in instant tea processing[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2013, 39(3): 153-157. (in Chinese)
- [2] YANG Guojun, SONG Zhenshuo, WANGN Lili, et al. Development status and countermeasures of instant tea industry in China [J]. **Fujian Tea**, 2017, 39(3): 9-11. (in Chinese)
- [3] HE Xiaomei, ZHANG Ying, WU Li. Application of enzyme in processing of instant tea [J]. **Tea**, 2013, 39 (3): 127-129. (in Chinese)
- [4] ZHANG Miaogao, ZHANG Pinghu, CHEN Zhongzheng, et al. Research and application progress of vacuum freeze drying technology in tea processing[J]. **Journal of Anhui Agricultural Sciences**, 2014, 42(30): 10679-10680. (in Chinese)
- [5] ZHANG Wenjing, LIN Jinke, WU Liangyu. The research process of processing technology of instant tea [J]. **Guizhou Tea**, 2012, 40(2): 7-11. (in Chinese)
- [6] YANG Z Y, BALDEMANN S, WATANABE N. Recent studies of the volatile compounds in tea [J]. **Food Research International**, 2013, 53(2): 585-599. (in Chinese)
- [7] WINTERHALTER P, SKOUROUMOUNIS G. Glycoconjugated aroma compounds; occurrence, role and biotechnological transformation[J]. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, 1997, 55: 73-105. (in Chinese)

- [8] YAO Yao, LIU Qing, LIU Fu, et al. Characteristics of β -glucosidase and its applications in food processing [J]. **Guizhou Agricultural Sciences**, 2018, 46(2): 132-135. (in Chinese)
- [9] HU Qunfang, LI Lijun, CHEN Yanhong, et al. Purification of α -L-rhamnosidase from the solid-state fermentation product of *Aspergillus niger* and its application in enzymatic production of Prunin[J]. **Modern Food Technology**, 2015, 31(1): 107-114. (in Chinese)
- [10] ZHU Y B, ZHANG Z Z, YANG Y F, et al. Analysis of the aroma change of instant green tea induced by the treatment with enzymes from *Aspergillus niger* prepared by using tea stalk and potato dextrose medium [J]. **Flavour & Fragrance Journal**, 2017, 32(6): 1-10.
- [11] ZHANG L Z, NI H, ZHU Y B, et al. Characterization of aromas of instant oolong tea and its counterparts treated with two crude enzymes from *Aspergillus niger*[J]. **Journal of Food Processing and Preservation**, 2018, 42(2): e13500.
- [12] SUN Qifu, LIANG Yuerong, LU Jianliang. Effect of β -glucosidase on aroma of green tea liquor [J]. **Tea**, 2007, 33(4): 211-213. (in Chinese)
- [13] NI H, SUN H, ZHENG F P, et al. Effects of two enzyme extracts of *Aspergillus niger*, on green tea aromas [J]. **Food Science & Biotechnology**, 2017, 26(3): 1-12.
- [14] VANDENDOOL H, KRATZ P D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography[J]. **Journal of Chromatography A**, 1963, 11(C): 463-471.
- [15] KATSUNO T, KASUGA H, KUSAUO Y, et al. Characterisation of odorant compounds and their biochemical formation in green tea with a low temperature storage process[J]. **Food Chemistry**, 2014, 148(148C): 388-395.
- [16] QIN Z H, PANG X L, CHEN D, et al. Evaluation of Chinese tea by the electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry: Correlation with sensory properties and classification according to grade level [J]. **Food Research International**, 2013, 53(2): 864-874.
- [17] WU Y S, LV S D, LIAN M, et al. Study of characteristic aroma components of baked Wujiatai green tea by HS-SPME/GC-MS combined with principal component analysis[J]. **CyTA-Journal of Food**, 2016, 14: 1-10.
- [18] XIA T, SHI S Q, WAN X C. Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion[J]. **Journal of Food Engineering**, 2006, 74(4): 557-560.
- [19] ZHANG X B, Du X F. Effects of exogenous enzymatic treatment during processing on the sensory quality of summer tieguanyin oolong tea from the Chinese Anxi county[J]. **Food Technology and Biotechnology**, 2015, 53(2): 180-191.
- [20] ZHU J C, CHEN F, WANG Lingying, 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.
- [21] CHENG H, CHEN J L, CHEN S G, et al. Characterization of aroma-active volatiles in three Chinese bayberry (*Myrica rubra*) cultivars using GC-MS-olfactometry and an electronic nose combined with principal component analysis [J]. **Food Research International**, 2015, 72(15): 8-15.
- [22] TIRMAN D, TAYLOR M, SCHAUER N, et al. Tomato aromatic amino acid decarboxylases participate in synthesis of the flavor volatiles 2-phenylethanol and 2-phenylacetaldehyde [J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 2006, 103(21): 8287-8292.