

基于GC-MS和电子舌技术的 白芽奇兰灵芝菌茶风味特征研究

戴宇樵, 罗学尹, 刘亚兵, 李 琴, 方仕茂, 张 拓, 潘 科*
(贵州省茶叶研究所, 贵州 贵阳 550006)

摘要: 采用高效液相色谱(HPLC, High Performance Liquid Chromatography)、电子舌与气相色谱-质谱联用仪(GC-MS, Gas Chromatography-mass Spectrometry)相结合, 利用多元统计分析, 对夏秋白芽奇兰灵芝菌茶的滋味与香气品质特征进行判定。结果表明: 与夏秋白芽奇兰红茶相比, 白芽奇兰灵芝菌茶在滋味与香气特征上具有显著变化。HPLC检测结果显示儿茶素类、咖啡碱类苦涩味物质及部分氨基酸类物质含量显著下降。电子舌结果表明苦味、鲜味响应值降低, 甜味响应值增加。挥发性成分上, 建立正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)模型, 选取模型中VIP值>1的香气化合物作为2组样本之间的差异香气特征化合物, 经筛选得到差异香气化合物共43种: 其中酮类化合物6个, 醛类化合物11个, 醇类化合物12个, 酯类化合物6个, 酸类化合物3个, 其他芳烯类、呋喃等烷烃类化合物共5个; 有16个差异香气化合物相对含量上升, 27个差异香气化合物相对含量下降。总体表现为, 灵芝菌对夏秋白芽奇兰红茶滋味与香气特征具有改善作用。

关键词: 灵芝菌; 电子舌; 夏秋茶; 白芽奇兰

中图分类号: TS 207.3; O 657.63 文献标志码: B 文章编号: 1005-9989(2022)08-0264-08
DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2022.08.025

Flavor Characteristics of Baiyaqilan *Ganoderma Lucidum* Fungus Tea by GC-MS and Electronic Tongue Technology

DAI Yuqiao, LUO Xueyin, LIU Yabing, LI Qin, FANG Shimao, ZHANG Tuo, PAN Ke*

(Guizhou Tea Research Institute, Guiyang 550006, China)

Abstract: The taste and aroma quality characteristics of *Ganoderma lucidum* tea with Baiyaqilan(a kind of Oolong tea) in summer and autumn were determined by high performance liquid chromatography, electronic tongue and gas chromatography-mass spectrometry with multivariate statistical analysis. The results showed that: compared with Baiyaqilan black tea in summer and autumn, Baiyaqilan *Ganoderma lucidum* fungus tea had significant changes in taste and aroma characteristics. The results of HPLC showed that the contents of catechins, caffeine-like bitter and astringent substances and some amino acids were significantly decreased. The electronic tongue results showed that the response

收稿日期: 2022-03-11

*通信作者

基金项目: 贵州省科技厅科技支撑项目(黔科合支撑[2020]1Y009号); 贵阳市科技计划项目(筑科合同[2021]3-20号)。

作者简介: 戴宇樵(1994—), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向为茶叶加工与品质形成调控。



value of bitterness and umami decreased, and the response value of sweetness increased. In terms of volatile components, an Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis (OPLS-DA) model was established, and aroma compounds with a VIP value > 1 in the model were selected as the differential aroma characteristic compounds between the two groups of samples. A total of 43 compounds were screened, including 6 ketones, 11 aldehydes, 12 alcohols, 6 esters, 3 acids, and 5 other alkenes such as arylene and furans. A total of 16 aroma compounds increased in relative content, and 27 aroma compounds decreased in relative content. In general, *Ganoderma lucidum* can improve the taste and aroma characteristics of Baiyaqilan black tea in summer and autumn.

Key words: *Ganoderma lucidum* fungus; electronic tongue; summer and autumn tea; Baiyaqilan(a kind of Oolong tea)

白芽奇兰为福建省内乌龙品种,属灌木型,成茶外形紧结匀整,香气清香浓长,兰花清香显露,所制红茶品质优异^[1]。灵芝是一种药食两用真菌,具有抗氧化、调节免疫作用,其菌丝体可产生用于食品发酵的酶类物质^[2]。通过对目前已有文献、产品可溯源的药食用菌茶进行归类可分为“非发酵模式”与“发酵模式”2种。“非发酵模式”是指直接将灵芝子实体切块或粉碎与干茶混合进行配制的产品,比如刘良琴^[3]直接将灵芝与绿茶混合粉碎制得灵芝茶,杜洋^[4]将绿茶茶汤直接与蛹虫草灵芝汁液进行混合,期间无生化反应。“发酵模式”是指以茶叶为生长基质,接种已活化的灵芝菌种进行培养,通过一系列生化反应,以微生物菌体与其他代谢物的混合物为主体形成灵芝菌茶^[5]。因茶叶富含抑菌成分,微生物在含茶水的培养基中一般生长不良,但经驯化后的灵芝菌可以在茶叶表面生长,并利用茶叶内含物质作为有机养分生长繁殖。为此,需对灵芝菌进行驯化,筛选出在含茶水培养基中生长良好的灵芝菌。20世纪90年代,福建省农科院林新坚等依据在日本的工作基础,在国内最先研发出以茶叶为培养基、布满天然生长的灵芝菌丝的灵芝菌茶^[5]。林戎斌等^[6]筛选了合适灵芝菌固态发酵的茶原料,认为茶鲜叶比干茶作原料更为合适。田广文等^[7]以富硒灵芝、红茶菌和茶叶为原料制成饮料。邹礼根^[8]、连红茹^[9]先后以茶液驯化筛选出适茶灵芝菌株,分析了茶液对灵芝菌株生长和灵芝菌多糖等活性成分合成的影响,筛选优化了以中低档绿茶为原料的灵芝菌液态发酵培养基和发酵条件。华中农业大学课题组驯化筛选出几株适合在茶叶基质上生长的灵芝菌,优化得到液态和固态发酵工艺,制成不添加其他任何外源物的

液态灵芝流茶饮料和固态灵芝菌茶。目前由于夏秋茶原料中多酚含量较高,所制红茶具有苦涩味较重的品质短板^[10]。因此增多甜味物质含量,降低苦涩味物质含量是改善夏秋红茶品质的直接手段,利用灵芝菌以茶叶为基质生长这一特性,本研究利用添加外源微生物进行发酵的方法制成灵芝菌茶,了解通过灵芝菌固态发酵前后茶叶中滋味物质及香气物质变化规律,探究夏秋白芽奇兰灵芝菌茶风味特征。

茶叶中滋味、香味物质为茶叶风味特征的重要指标^[11-14]。目前电子舌技术可对食品呈味特征进行量化,GC-MS是评价食品中挥发性成分的重要检测技术^[15]。本实验运用感官审评对白芽奇兰灵芝菌茶风味特征进行基本评价,利用高效液相色谱(HPLC)与电子舌对样品中滋味物质与呈味特征进行检测,利用气相色谱质谱联用仪(GC-MS)对样品的香气特征进行判定。

1 材料与方法

1.1 材料

白芽奇兰一芽二叶鲜叶采摘于贵州天贵茶业有限公司茶园,以萎凋→揉捻→做形→烘干→提香的工艺制成白芽奇兰红茶(BYQL)。

灵芝菌种(*Ganoderma lucidum*):贵州省中国科学院生物研究所,与白芽奇兰通过发酵处理得到白芽奇兰灵芝菌茶(JBYQL)。

1.2 仪器与设备

乙腈、儿茶素类标准品、乙二胺四乙酸二钠、咖啡碱标准品、甲醇、乙酸、抗坏血酸、没食子酸标准品、Waters Acc Q.Tag化学试剂包(硼酸缓冲液、衍生剂粉末、衍生剂稀释液、混合氨基酸水解标样):美国Waters公司。

SW-CJ-1FD型超净工作台：苏州安泰空气技术有限公司；BSD-150震荡培养箱：上海博迅实业有限公司医疗设备厂；立式压力蒸汽灭菌器、PL203型电子分析天平：梅特勒-托利多仪器有限公司；KL-UP-III-20型超纯水仪：成都唐氏康宁科技发展有限公司；FBS-750A型快速水分测定仪：厦门弗布斯检测设备有限公司；TG16A型高速离心机：上海卢湘仪离心机仪器有限公司；SHZ-III型真空抽滤装置：天津市恒奥公司；IT-07A-3型恒温磁力搅拌器：上海一恒科技有限公司；LC-2030C型高效液相色谱仪、岛津GC-MS QP2010：日本岛津公司；DK-98-II型电热恒温水浴锅、WGL-230B型电热鼓风干燥箱：天津市泰斯特仪器有限公司；SA-402B型电子舌：日本Insent公司；DVB/CAR/PDMS 50/30 μm (二乙烯基苯/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷)固相萃取头：萃取手柄：美国Supelco公司。

1.3 方法

1.3.1 灵芝菌茶样品制备 灵芝菌茶工艺：菌种制备→白芽奇兰红茶准备→接种→发酵→烘干。菌种制备工艺：菌种活化→菌种初筛→菌种驯化→菌种复筛→菌种验证，得到灵芝菌种子液。将含水量60%的白芽奇兰红茶经过121 $^{\circ}\text{C}$ ，40 min高温高压灭菌，以灵芝菌种子液：茶为1:10的比例将灵芝菌种子液接种至白芽奇兰红茶中。以25 $^{\circ}\text{C}$ 发酵培养10 d，70 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至水分达到3%~4%，制得灵芝菌茶样品(图1)。



注：A.白芽奇兰红茶；B.白芽奇兰灵芝菌茶。

图1 白芽奇兰红茶及白芽奇兰灵芝菌茶图片

1.3.2 儿茶素及咖啡碱检测 检测方法：按照国标GB/T 8313—2018进行。样品制备：称取0.2 g茶样于10 mL离心管中，加入5 mL预热的70%甲醇水溶液，在70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下，浸提10 min，每隔5 min摇匀搅拌一次，浸提后冷却至室温，3500 r/min转速下离心10 min，将上清液转移至10 mL容量瓶。残渣用5 mL预热的70%甲醇水溶液。重复上述操作，合并两次提取液定容至10 mL，摇匀，备用。

取2 mL备用液至10 mL容量瓶中，用稳定溶液定容至刻度，摇匀，用0.45 μm 滤头过滤，制成待测样品。

1.3.3 氨基酸组分检测 称取(0.1 $\pm$ 0.0005)g茶粉，置于15 mL离心管中，移液管取10 mL纯水。在100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中浸提45 min，每隔10 min振荡1次。冷却至室温，将氨基酸提取液用0.45 μm 水系滤头过滤，制成待衍生样品。用Waters Acc Q.Tag化学试剂包中衍生剂稀释液1 mL溶解衍生试剂粉末，置于预热55 $^{\circ}\text{C}$ 的加热装置，直至粉末完全溶解，加热时间不超过10 min。样品制备：移液枪枪头吸取10 μL 氨基酸提取液于内衬管中，换洁净枪头吸取70 μL 硼酸缓冲液注入内衬管，涡旋，混合；再取洁净枪头吸取20 μL 衍生试剂注入内衬管，立即涡旋混合10 s，室温放置1 min，加热装置55 $^{\circ}\text{C}$ 下加热10 min，等待进样。衍生后，氨基酸带有发光基团，以配有荧光检测器的高效液相色谱仪进行检测。检测波长：激发波长250 nm，入射波长395 nm。检测温度25 $^{\circ}\text{C}$ ，进样量10 μL 。流动相：A相，体积比1:10稀释浓缩液A(Acc Q.Tag洗脱液)，0.22 μm 滤膜抽滤；B相，色谱纯级别乙腈；C相，超纯水。均15 min超声脱气处理。流速设为1 mL/min，梯度洗脱条件：0 min，100%A；17 min：91%A，5%B，4%C；24 min：80%A，17%B，3%C；32 min：68%A，20%B，12%C；34 min：68%A，20%B，12%C；35 min：60%B，40%C；38 min：100%A；45 min：100%A。氨基酸组分采用OPA、FMOC衍生。分析色谱柱采用Durashell-AA专用柱(4.6 mm $\times$ 150 mm，3 mm)；分析条件：流动相A为十二水和磷酸氢二钠4.5 g+十水合四硼酸钠4.75 g+36%盐酸1.5 mL+1000 mL水，流动相B为乙腈：甲醇：水=45:45:10(v:v:v)；洗脱梯度：0 min，100%A；17 min：91%A，5%B，4%C；24 min：80%A，17%B，3%C；32 min：68%A，20%B，12%C；34 min：68%A，20%B，12%C；35 min：60%B，40%C；38 min：100%A；45 min：100%A。

1.3.4 电子舌检测 在进样前对电子舌进行传感器活化、校准、诊断。以50 mL的电子舌专用烧杯装置茶汤，以采集与清洗交替进行数据采集。一个茶汤样本采集时间为120 s，清洗时间10 s，每秒采集1个数据。每个茶汤样品重复测定4次，选取后3次稳定的测量数据进行后续分析，每次选定120 s时间段内稳定响应信号的平均值作为输出



值。每个茶样保留电子舌的4次测量数据,检测的环境温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ ^[16]。

1.3.5 气相色谱-质谱联用法检测挥发性物质

SPME条件:称取2 g液氮研磨茶样,迅速装入20 mL螺纹瓶盖顶空瓶,加入磁力搅拌子(转速500 r/min),使用固相微萃取装置配DVB/CAR/PDMS 50/30 μm 萃取头扎入顶空瓶,后推出萃取头约2.5 cm,50 $^\circ\text{C}$ 水浴条件下,固相萃取富集挥发性成分45 min,GC进样口解析5 min。

色谱条件:SH-Rxi-5Sil MS色谱柱(0.25 $\mu\text{m} \times 0.25 \mu\text{m} \times 30 \text{ m}$)载气:氦气;柱温:50 $^\circ\text{C}$;进样口温度:250 $^\circ\text{C}$;进样方式:分流,分流比:50:1;流量控制方式:线速度;程序升温:50 $^\circ\text{C}$ 保持5 min,4 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至160 $^\circ\text{C}$,保持3 min,12 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至200 $^\circ\text{C}$,保持1 min,15 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至280 $^\circ\text{C}$,保持5 min。

质谱条件:离子化方式EI,离子源温度:230 $^\circ\text{C}$,接口温度:250 $^\circ\text{C}$,采集方式:Scan;质量扫描范围:35~500 m/z。

1.4 数据处理

采用Excel 2016进行统计分析与雷达图绘制;采用SPSS 20软件进行独立T检验;采用Origin 2021软件进行点线图的制作;采用SCIMA软件进行正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)分析。

2 结果与分析

2.1 感官审评评价白芽奇兰红茶及灵芝菌茶

表1 白芽奇兰红茶与灵芝菌茶感官审评表

茶样	评语		
	香气	汤色	滋味
BYQL	花香,生气	橙黄,亮	甜,略酸
JBYQL	甜香,花香,熟菌味	红浓	甜,酸,有菌酸

由表1可知,通过灵芝菌接种发酵处理,使白芽奇兰红茶的感官品质发生改变,香气由之前的花香、具有生气转变为具有甜香、花香、熟菌香,汤色由橙黄转为红浓,滋味呈现更加丰富,由甜、略酸转为具有甜、菌酸味。

2.2 基于电子舌传感器与HPLC的白芽奇兰红茶与灵芝菌茶滋味特征对比分析

图2为电子舌传感器所显示的响应值雷达图,反映了白芽奇兰红茶与以白芽奇兰为原料制成的灵芝菌茶之间呈味特征的差异。在酸甜苦涩鲜五

表2 白芽奇兰红茶与灵芝菌茶中氨基酸、儿茶素、咖啡碱及茶黄素类物质含量对比

物质	BYQL/(mg/g)	JBYQL/(mg/g)	显著性	趋势
Asp 天冬氨酸	0.766 $\pm$ 0.099	1.068 $\pm$ 0.035	**	↑
Ser 丝氨酸	1.663 $\pm$ 0.09	0.053 $\pm$ 0.013	**	↓
Glu 谷氨酸	1.567 $\pm$ 0.21	0.145 $\pm$ 0.016	**	↓
Gly 甘氨酸	0.03 $\pm$ 0.004	0.01 $\pm$ 0.006	*	↓
His 组氨酸	0.851 $\pm$ 0.044	0.018 $\pm$ 0.004	**	↓
Arg 精氨酸	0.078 $\pm$ 0.004	0.14 $\pm$ 0.023	*	↑
Thr 苏氨酸	0.386 $\pm$ 0.016	0.002 $\pm$ 0.003	***	↓
Ala 丙氨酸	0.288 $\pm$ 0.027	0.345 $\pm$ 0.069	ns	↑
Pro 脯氨酸	0.285 $\pm$ 0.02	0.002 $\pm$ 0.035	***	↓
Thea 茶氨酸	12.969 $\pm$ 0.592	0.538 $\pm$ 0.013	***	↓
Cys 半胱氨酸	0.038 $\pm$ 0.007	0.141 $\pm$ 0.08	ns	↓
Tyr 酪氨酸	0.373 $\pm$ 0.013	0.085 $\pm$ 0.008	***	↓
Val 缬氨酸	0.366 $\pm$ 0.015	0.07 $\pm$ 0.009	***	↓
Met 甲硫氨酸	0.613 $\pm$ 0.089	0.053 $\pm$ 0.022	**	↓
Lys 赖氨酸	0.508 $\pm$ 0.053	0.119 $\pm$ 0.037	**	↓
Ile 异亮氨酸	0.26 $\pm$ 0.012	0.023 $\pm$ 0.005	***	↓
Leu 亮氨酸	0.38 $\pm$ 0.017	0.153 $\pm$ 0.061	*	↓
Phe 苯丙氨酸	0.186 $\pm$ 0.019	0.119 $\pm$ 0.011	**	↓
GA 没食子酸	1.265 $\pm$ 0.014	0.027 $\pm$ 0.008	***	↓
GC 没食子儿茶素	24.157 $\pm$ 0.257	0.006 $\pm$ 0.002	***	↓
TB 可可碱	1.195 $\pm$ 0.022	0.157 $\pm$ 0.045	***	↓
EGC 表没食子儿茶素	13.405 $\pm$ 0.069	3.925 $\pm$ 1.002	**	↓
C 儿茶素	3.584 $\pm$ 0.068	0.029 $\pm$ 0.008	***	↓
CA 绿原酸	2.272 $\pm$ 0.029	0.016 $\pm$ 0.003	***	↓
CAF 咖啡碱	46.671 $\pm$ 2.137	2.387 $\pm$ 0.636	***	↓
EGCG 表没食子儿茶素没食子酸	1.395 $\pm$ 0.094	0.000 $\pm$ 0.000	**	↓
EC 表儿茶素	1.498 $\pm$ 0.016	0.000 $\pm$ 0.000	***	↓
GCG 没食子儿茶素没食子酸	0.707 $\pm$ 0.003	0.014 $\pm$ 0.001	***	↓
ECG 表儿茶素没食子酸	2.34 $\pm$ 0.046	0.077 $\pm$ 0.003	***	↓
CG 儿茶素没食子酸	2.198 $\pm$ 0.018	0.027 $\pm$ 0.006	***	↓
TF1	1.148 $\pm$ 0.013	0.008 $\pm$ 0.002	***	↓
TF-3-G	2.146 $\pm$ 0.01	0.026 $\pm$ 0.000	***	↓
TFDC 茶黄素单体	6.366 $\pm$ 0.242	0.065 $\pm$ 0.002	***	↓
TF-3'-G	1.407 $\pm$ 0.054	0.017 $\pm$ 0.002	**	↑

注:茶样相对含量以“平均值 $\pm$ 标准差”来表示;“ns”表示不具有显著性差异;“*”表示 $P < 0.1$,显著;“**”表示 $P < 0.05$,极显著;“***”表示 $P < 0.01$,极其显著;“↑”表示JBYQL与BYQL相比,相对含量上调;“↓”表示JBYQL与BYQL相比,相对含量下调。

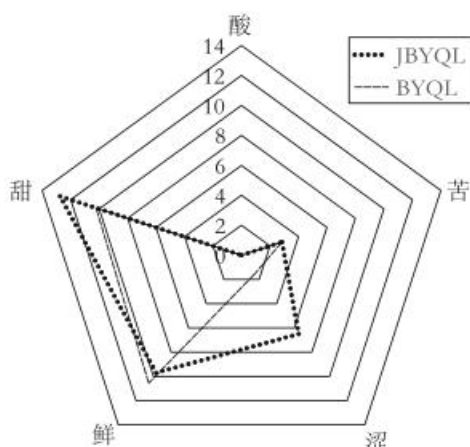


图2 白芽奇兰红茶与灵芝菌茶电子舌检测雷达图

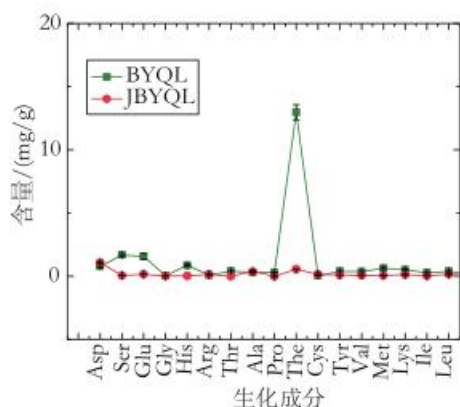


图3 白芽奇兰红茶与灵芝菌茶18种氨基酸含量对比

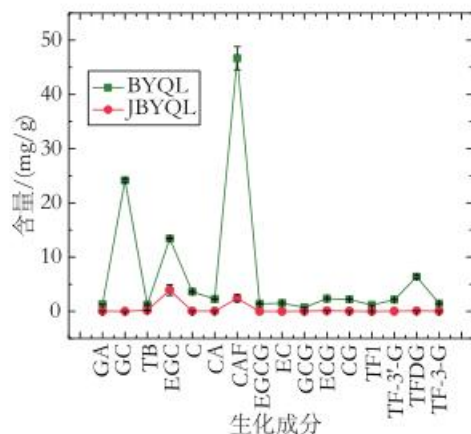


图4 白芽奇兰红茶与灵芝菌茶儿茶素茶黄素组分及咖啡碱含量对比

种味觉表现中,与白芽奇兰红茶相比,灵芝菌茶甜味、涩味响应值有所增加,苦味、鲜味响应值则略有降低,而酸味响应值呈味则不变。对于茶叶滋味特征,氨基酸为鲜味、甜味的主要贡献物质^[17],儿茶素类主要为苦味、涩味的贡献物质,咖啡碱为苦味的主要贡献物质^[18-19]。通过对茶样中18种氨基酸物质(图3)与儿茶素茶黄素类及咖啡

碱含量(图4)检测分析发现,所检测物质含量的变化规律与电子舌传感器所显示的响应值变化规律相吻合。由表2可知,与白芽奇兰红茶相比,灵芝菌茶中,接种灵芝菌后,白芽奇兰红茶中除Ala、Asp和Ala外,其余氨基酸含量均具有降低趋势;且除Cys外,其余氨基酸降低趋势均具有显著性差异,Asp、Glu与Thea均为鲜味氨基酸,虽Asp含量显著上升,但Glu含量呈极显著降低,Thea含量呈现极显著降低;Ala为甜味氨基酸,但并未呈现显著上升趋势;精氨酸Arg、组氨酸His、缬氨酸Val、酪氨酸Tyr、异亮氨酸Ile、甲硫氨酸Met、苯丙氨酸Phe及亮氨酸Leu组成苦味氨基酸,此类氨基酸含量均呈现显著降低趋势,在电子舌检测中,苦味响应值降低起到贡献。除EGCG与茶黄素单体TF-3'-G外,其余儿茶素类物质与咖啡碱含量均表现出极显著降低,这也为白芽奇兰灵芝菌茶电子舌苦味响应值与红茶相比降低起到贡献,茶黄素类物质的显著降低也与茶汤由“橙黄”转为“红浓”的评价相符,考虑为通过灵芝菌发酵,在微生物与湿热作用下,茶黄素逐渐向茶红素转化,含量降低。酯型儿茶素为茶叶中涩味的主要贡献物质,本次检测中,电子舌涩味响应值却呈现上升趋势,但酯型儿茶素含量呈现极显著下降,针对此现象将在之后研究中继续对茶叶中黄酮类、酚酸类等对涩味起主要贡献物质保持关注。

2.3 基于GC-MS的白芽奇兰红茶与灵芝菌茶香气特征对比分析

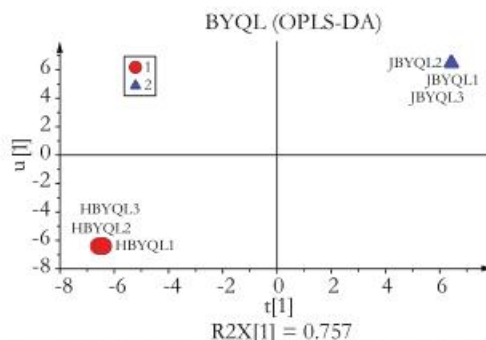


图5 白芽奇兰红茶与灵芝菌茶香气成分OPLS-DA

表3 OPLS-DA分析参数

茶样	R ² X	R ² Y	Q ²
BYQL_vs_JBYQL	0.757	1	0.99

本实验建立了白芽奇兰红茶与灵芝菌茶之间差异香气特征化合物的OPLS-DA模型,如图5所



示, 本组样本中, 各自的3个平行样本在OPLS-DA模型中具有较好的离散性, 且平行样本聚类相似, 评价模型的预测参数如表3所示, 3个参数越接近于1表示模型越可靠, $Q^2 > 0.9$ 时为出色模型。在本组模型中, R^2Y 和 Q^2 的值均大于0.9, 说明该组模型构建良好, 能较好地反映白芽奇兰红茶与灵芝菌茶之间差异香气特征化合物变化规律。

基于此模型的建立, 本实验选取模型中VIP值

>1 的香气化合物作为2组样本之间的差异香气特征化合物, VIP值表示对应化合物的组间差异在模型中各组样本分类判别中的影响强度, 一般认为VIP ≥ 1 的化合物为差异显著。故本实验中为白芽奇兰红茶和灵芝菌茶香气差异起到主要贡献的化合物信息见表4。

结合表4和图6可知, 在灵芝菌的影响下, 白芽奇兰红茶香气特征物质发生变化, 引起此差异

表4 白芽奇兰红茶与灵芝菌茶差异香气化合物特征信息

序号	CAS号	名称	保留时间	BYQL/%	JBYQL/%	显著性	趋势	香型
1	78-84-2	异丁醛	1.88	0.33±0.2	0.91±0.04	**	↑	刺激性气味
2	96-17-3	2-甲基丁醛	2.5	0.57±0.15	1.75±0.13	***	↑	—
3	66-25-1	正己醛	4.8	2.76±0.1	4.80±0.46	**	↑	果香, 青草气
4	6728-26-3	反式-2-己烯醛	6.6	0.88±0.03	0.31±0.05	***	↓	果香; 蔬菜气味
5	111-71-7	庚醛	8.42	0.18±0.01	0.37±0.01	***	↑	果香, 脂肪味
6	18829-55-5	(E)-2-庚烯醛	10.7	0.07±0	0.14±0.01	***	↑	脂肪味
7	100-52-7	苯甲醛	10.8	3.33±0.06	2.56±0.33	*	↓	类似苦杏仁油的气味
8	124-13-0	正辛醛	12.61	0.54±0.18	1.60±0.03	***	↑	果香, 柑橘味
9	4313-3-5(h)	反式-2,4-庚二烯醛	12.93	1.95±0.07	1.11±0.19	**	↓	青气; 脂肪味
10	122-78-1	苯乙醛	14.28	0.85±0.07	2.37±0.3	**	↑	甜香, 风信子花香
11	5910-87-2	E,E)-2,4-壬二烯醛	20.93	0.16±0.02	0.00±0	***	↓	芳香, 似花香
12	78-93-3	2-丁酮	2.04	0.31±0.01	1.01±0.07	***	↑	芳香, 薄荷味
13	110-43-0	2-庚酮	8.05	0.34±0.01	0.54±0.01	***	↑	似香蕉的果香
14	110-93-0	甲基庚烯酮	12	0.60±0.01	0.85±0.01	***	↑	青柑橘味
15	1669-44-9	3-辛烯-2-酮	14.17	0.38±0.02	0.62±0.09	*	↑	—
16	38284-27-4	3,5-辛二烯-2-酮	16.34	0.41±0.03	0.00±0	***	↓	辛辣的草本味
17	79-77-6	β -紫罗兰酮	30.17	0.74±0.04	0.14±0.12	**	↓	果香
18	616-25-1	1-戊烯-3-醇	2.65	2.23±0.36	0.00±0	***	↓	青草气
19	71-41-0	正戊醇	4	0.65±0.02	0.52±0.04	*	↓	杂醇气味
20	1576-95-0	顺-2-戊烯醇	4.05	1.23±0.06	0.20±0.11	***	↓	青气
21	928-96-1	顺-3-己烯-1-醇	6.65	1.67±0.06	0.00±0	***	↓	辛辣味
22	928-95-0	反式-2-己烯-1-醇	7.1	1.32±0.05	0.06±0.01	***	↓	果香
23	111-27-3	正己醇	7.2	0.75±0.02	0.10±0.04	***	↓	甜醇香
24	111-70-6	正庚醇	11.3	0.13±0	0.08±0.01	**	↓	芳香, 脂肪味
25	3391-86-4	1-辛烯-3-醇	11.68	0.58±0	0.83±0.03	***	↑	甜香, 香草味
26	104-76-7	异辛醇	13.72	1.24±0.43	55.16±2.93	***	↑	甜香; 玫瑰花香
27	100-51-6	苯甲醇	13.86	4.10±0.51	0.85±0.07	***	↓	果香, 刺激性气味
28	5989-33-3	顺式芳樟醇氧化物	15.48	2.84±0.04	1.13±0.12	***	↓	—
29	39028-58-5(a)	反式吡喃芳樟醇氧化物	19.28	1.63±0.24	0.90±0.14	*	↓	—
30	53398-84-8	E)-己-3-烯基丁酸酯	19.95	0.51±0.02	0.00±0	***	↓	—
31	119-36-8	水杨酸甲酯	20.2	1.78±0.04	0.81±0.12	***	↓	鹿蹄草的气味
32	53398-83-7	反-2-己烯酸丁酯	20.286	0.28±0.04	0.00±0	***	↓	—

续表

序号	CAS号	名称	保留时间	BYQL/%	JBYQL/%	显著性	趋势	香型
33	31501-11-8	(Z)-己酸-3-己烯酯	26.78	0.61±0.01	0.00±0	***	↓	果香
34	6378-65-0	己酸己酯	26.92	0.19±0.05	0.00±0	**	↓	香草味
35	53398-86-0	反-2-己烯己酸酯	27.04	0.24±0.02	0.00±0	***	↓	—
36	109-52-4	正戊酸	7.6	0.33±0.04	0.00±0	***	↓	乳酪腐臭味
37	142-62-1	正己酸	11.9	3.53±0.39	0.00±0	***	↓	汗味, 羊骚味
38	112-05-0	壬酸	22.9	0.72±0.28	0.00±0	*	↓	脂肪味, 椰子香
39	100-42-5	苯乙烯	7.95	0.24±0.02	2.09±0.15	***	↑	甜香, 花香
40	138-86-3	双戊烯	13.64	0.10±0	0.00±0	***	↓	—
41	124-18-5	癸烷	12.5	1.11±0.07	7.13±0.31	***	↑	特殊香味
42	3777-69-3	2-正戊基呋喃	12.16	0.73±0.02	1.73±0.08	***	↑	果香
43	128-37-0	2,6-二叔丁基对甲酚	30.983	0.11±0.04	0.00±0	*	↓	芳香气味: 霉味, 偶有甲酚类气味

注: 茶样相对含量以“平均值±标准差”表示; “*”表示 $P<0.1$, 显著; “**”表示 $P<0.05$, 极显著; “***”表示 $P<0.01$, 极其显著; “↑”表示JBYQL与BYQL相比, 相对含量上调; “↓”表示JBYQL与BYQL相比, 相对含量下调; “—”表示未在相关文献查阅到相关信息。

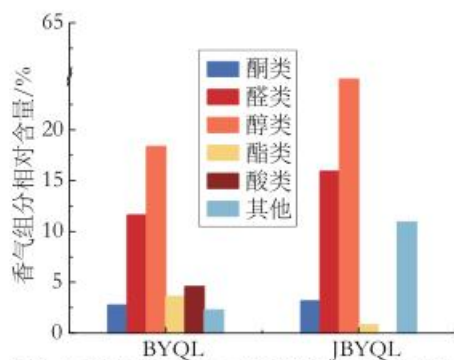


图6 白芽奇兰红茶与灵芝菌茶香气成分对比

的香气化合物经筛选共43种, 分为酮、醛、醇、酯、酸和其他等六大类, 其中酮类差异香气化合物6个, 醛类差异香气化合物11个, 醇类差异香气化合物12个, 酯类化合物6个, 酸类化合物3个, 其他芳烯类、呋喃等烷烃类差异香气化合物5个, 与白芽奇兰红茶相比, 灵芝菌茶中酮类、醇类、醛类、其他香气物质相对含量总量有所增加, 酯类、酸类香气化合物相对含量总量有所降低。

在香气差异化合物中, 共有16个化合物相对含量上升, 27个化合物相对含量下降。且具有“果香”“甜香”的2-甲基丁醛、庚醛、(E)-2-庚烯醛、正辛醛、2-丁酮、2-庚酮、甲基庚烯酮、1-辛烯-3-醇、异辛醇、苯乙烯、癸烷、2-正戊基呋喃等12个香气化合物相对含量呈现极显著上升, 这与感官审评中灵芝菌茶与原料茶相比出现甜香这一特征相符, 在与红茶香气密切相关的组分芳樟醇及其氧化物中^[1], 反式吡喃芳樟醇氧化物相对含量呈现显著下降, 顺式芳樟醇氧化物

呈现极显著下降, 在下调差异香气化合物中, 具有“青味”“青气”“辛辣味”“乳酪腐臭味”“羊骚味”的1-戊烯-3-醇、顺-2-戊烯醇、顺-3-己烯-1-醇、正戊酸、正己酸等香气化合物呈现极显著下降趋势, 为香气特征形成起到积极作用, 作为发酵过程中独有的“杏仁味”香气化合物苯甲醛相对含量显著下降, 这与普洱熟茶等发酵类茶叶中该物质变化趋势不一致。总体来说, 结合感官审评, 在微生物作用下, 白芽奇兰灵芝菌茶相比原料茶, 甜香、花香有所上升, 青气减弱, 并出现熟菌香。因而灵芝菌对白芽奇兰红茶香气影响与微生物之间的代谢关系, 也成为下一步重点关注的问题, 以期精准掌握发酵类茶叶品质形成规律提供理论基础与参考。

3 讨论与结论

本研究利用食用灵芝菌对高香型品种白芽奇兰红茶进行发酵处理, 可改善其滋味特性和香气特性。这与人研究中, 利用白参菌改善普洱茶香气特征、利用虫草改善绿茶滋味特征, 利用茯苓改善茶叶的品质具有相似的效果。本次研究发现灵芝菌发酵对儿茶素类、咖啡碱这类苦涩味物质的影响显著, 对大部分香气物质的含量有显著影响, 由此可见灵芝菌发酵可作为干涉夏秋高香型茶叶综合品质的手段之一。

通过感官审评与理化分析, 发现夏秋白芽奇兰灵芝菌茶对比同品种红茶中儿茶素类、咖啡碱苦涩味物质显著降低, 氨基酸类除Ala、Asp和Ala



外,其余氨基酸含量均具有降低趋势,电子舌响应值表示其甜味、涩味增加,苦味、鲜味降低。利用GC-MS与OPLS-DA进行香气物质检测分析与判别,共筛选出引起夏秋白芽奇兰茶与灵芝菌茶之间香气差异的主要贡献化合物43种,与白芽奇兰红茶相比,灵芝菌茶中酮类、醇类、醛类、其他香气物质相对含量有所增加,酯类、酸类香气化合物相对含量有所降低。“甜香”“果香”类化合物相对含量显著上升,“青气”“辛辣味”类化合物相对含量显著下降,滋味物质与香气物质检测结果与感官审评结果相符。基于此,表明灵芝菌茶相比原料茶而言,其甜味增加,苦味降低,香气呈现更加丰富,整体风味特征得到改善,利于解决夏秋茶苦涩味重、香气特征不突出的问题,且灵芝保健功能突出,进一步强化夏秋灵芝菌茶产品的发展优势,为夏秋茶资源多元化利用提供新思路。

综上所述,发酵类茶叶品质在自然发酵时不仅会受微生物湿热作用、胞外酶影响,且在以食药菌作为单一发酵菌种时也能对其品质产生积极影响。其原因考虑为:食药菌消耗茶叶自身具有的碳源营养物质后,分泌出胞外酶,在发酵过程中的湿热作用下使茶叶生化成分发生改变,代谢途径尚不清楚,这也成为下一步研究的重点。

参考文献:

- [1] 林广福.“白芽奇兰”的形态特征及品质特点[J].福建农业,1995,(10):8.
- [2] CAI M, XING H Y, TIAN B M, et al. Characteristics and antifatigue activity of graded polysaccharides from *Ganoderma lucidum* separated by cascade membrane technology[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 269(10): 118329.
- [3] 刘良琴.灵芝多糖的提取纯化、结构表征及灵芝茶的质量控制研究[D].贵州:贵州师范大学,2017.
- [4] 杜洋.蛹虫草灵芝复合茶饮料的研制[D].沈阳:沈阳农业大学,2016.
- [5] 黄友谊.茶叶微生物产品学[M].北京:中国轻工业出版社,2017:127-138.
- [6] 林成斌,陈济琛,郑永标,等.三种药用菌发酵茶的最适茶培养基[J].食用菌学报,2004,11(3):38-42.
- [7] 田广文,陈德育,杨祥.富硒灵芝茶菌保健饮料的研制[J].食用菌,2009,31(2):55-56.
- [8] 邹礼根.灵芝菌在茶叶发酵中的应用研究[D].杭州:浙江工业大学,2004.
- [9] 连红茹.灵芝发酵绿茶提高绿茶茶汤品质的研究[D].济南:山东轻工业学院,2008.
- [10] 黄翔翔,谭婷,禹利君,等.茯砖茶对葡聚糖硫酸钠诱导UC小鼠炎症及肠道微生物的影响[J].茶叶科学,2021,41(5):681-694.
- [11] HUANG X X, TAN T, YU L J, et al. Effects of Fu Brick tea on inflammation and intestinal microbe in UC mice induced by sodium glucan sulfate[J]. Journal of Tea Science, 2021, 41(5): 681-694.
- [12] QI D D, MIAO A Q, CHEN W, et al. Characterization of the volatile compounds profile of the innovative broken oolong-black tea in comparison with broken oolong and broken black tea[J]. Food Control, 2021, 129(11): 108197.
- [13] GUO X Y, HO C T, SCHWAB W, et al. Aroma profiles of green tea made with fresh tea leaves plucked in summer[J]. Food Chemistry, 2021, 363(4): 130328.
- [14] YANG J, ZHOU X C, WU S H, et al. Involvement of DNA methylation in regulating the accumulation of the aroma compound indole in tea (*Camellia sinensis*) leaves during postharvest processing[J]. Food Research International, 2021, 142(12): 110183.
- [15] 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(Part 1): 128230.
- [16] XU S S, WANG J J, WEI Y M. Metabolomics Based on UHPLC-Orbitrap-MS and Global Natural Product Social Molecular Networking Reveals Effects of Time Scale and Environment of Storage on the Metabolites and Taste Quality of Raw Pu-erh Tea[J]. Agriculture Week, 2019, 67(43): 12084-12093.
- [17] 刘爽.绿茶鲜爽味的化学成分及判别模型研究[D].北京:中国农业科学院,2014.
- [18] 刘盼盼,邓余良,尹军峰,等.绿茶滋味量化及其与化学组分的相关性研究[J].中国食品学报,2014,14(12):173-181.
- [19] KANEKO S, KUMAZAWA K, MASUDA H, et al. Molecular and sensory studies on the umami taste of Japanese green tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(7): 2688-2694.