

5种黑曲霉粗酶液对乌龙茶溶液挥发性成分的影响

李利君^{1,2}, 李文静^{1,2}, 于智超², 张 婷^{1,2}, 李 红^{1,2}, 倪 辉^{1,2}

(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)

[摘要] 用5种不同培养基发酵制备的黑曲霉粗酶液处理乌龙茶水溶液, 运用顶空固相微萃取(headspace solid phase microextraction, HS-SPME)结合气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)技术分析处理前后挥发性成分含量和香气强度的变化。结果表明, 共鉴定出28种挥发性成分, 包括酯类10种、醛类4种、醇类5种、烯烃类6种和其他类化合物3种, 其中正己醛、橙花叔醇、*p*-伞花烃、反式- β -罗勒烯、 α -法呢烯和吲哚是乌龙茶水溶液中含量较高的挥发性成分。察氏粗酶处理组和果胶粗酶处理组中, 正己醛含量明显增加; 麦麸粗酶处理组和柚皮粗酶处理组中, 苯乙醇、橙花叔醇和 α -法呢烯含量明显增加; 麦麸粗酶处理组中新增加了苯甲醛、顺式-3-己烯醇和橙花醇; 果胶粗酶处理组和柚皮粗酶处理组中新增加了顺式-3-己烯醇和橙花醇。香气活力值(odour activity value, OAV)表明, 察氏粗酶处理组、果胶粗酶处理组、麦麸粗酶处理组和柚皮粗酶处理组中, 苯乙醛(甜香)和橙花叔醇(花香)的OAV均显著增加, 增强了乌龙茶水溶液的甜香和花香味。

[关键词] 黑曲霉; 粗酶液; 乌龙茶; 挥发性成分; 香气活力值

[中图分类号] Q 815

Effects of Five Crude Enzymes from *Aspergillus niger* on Volatiles of Oolong Tea Infusions

LI Lijun^{1,2}, LI Wenjing^{1,2}, YU Zhichao², ZHANG Ting^{1,2}, LI Hong^{1,2}, NI Hui^{1,2}

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Key Laboratory of Food Microbiology and Enzyme Engineering of Fujian Province, Xiamen 361021, China)

Abstract: Five different media were used to prepare crude enzymes from *Aspergillus niger*, which were submitted to treat oolong tea infusion, followed by analyzing the volatile compounds and aroma intensity using headspace solid phase microextraction (HS-SPME) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). As a result, 28 volatile compounds, including 10 esters, 4 aldehydes, 5 alcohols, 6 olefins and 3 other compounds were identified. Among them, hexanal, nerolidol, *p*-cymene, trans- β -ocimene, α -farnesene and indole were the major volatile compounds in oolong tea infusions. The content of hexanal in the czapek's-crude-enzymes treated sample and the pectin-crude-enzyme treated sample increased significantly. The content of phenylethyl alcohol, nerolidol and α -farnesene in the wheat-bran-crude-enzyme treated sample and the pomelo-peel-crude-enzyme treated sample increased significantly. After the treatment, benzaldehyde, cis-3-hexenol and nerol were detected in the wheat-bran-crude enzyme treated sample; and cis-3-hexenol and nerol were detected in the pectin-crude-enzyme treated sample and the pomelo-peel-crude-enzyme treated sample; these compounds

[收稿日期] 2018-12-07

[基金项目] 福建省科技计划重点项目(2016N0021)

[作者简介] 李利君(1973—), 女, 副教授, 从事食品酶学与食品风味研究。

were not detected in the non-treated sample. The odour activity value (OAV) indicated the OAV of phenylacetaldehyde (sweet) and nerolidol (floral) were significantly increased in the treatment of czapek's-crude-enzyme, pectin crude-enzyme, wheat bran crude enzyme and pomelo peel crude enzyme, resulting in the promotion of the sweet and floral notes.

Keywords: *Aspergillus niger*; crude enzymes; oolong tea; volatile compounds; odour activity value

0 引言

茶叶是我国重要的经济作物之一, 根据加工过程中茶多酚的变化方式和变化程度的不同, 茶叶可分为 6 大类: 绿茶 (不发酵), 白茶 (微发酵), 黄茶 (轻发酵), 乌龙茶 (半发酵), 红茶 (全发酵), 黑茶 (后发酵)^[1-2]。其中, 乌龙茶是中国特有的茶类, 主要品种有: 广东乌龙 (凤凰单枞、凤凰水仙、岭头单枞等); 闽北乌龙 (武夷岩茶、水仙、大红袍、肉桂等); 闽南乌龙 (铁观音、奇兰、水仙、黄金桂等); 台湾乌龙 (冻顶乌龙)^[3]。乌龙茶深受消费者喜爱, 名优特色产品众多^[4], 福建省是最重要的产区, 对社会经济产生了重要推动作用。

香气是评价茶叶质量优劣的重要指标之一^[5]。酶是决定茶叶香气质量的重要因素, 茶叶中的内源酶如 β - 樱草糖苷酶、 β -D- 葡萄糖苷酶和巢菜糖苷酶等, 它们分别催化 β - 樱草糖苷、 β -D- 葡萄糖苷和巢菜糖苷转化成的香气成分是茶叶香气品质形成的重要途径^[6-8]。此外, 相关研究还发现, 夏季乌龙茶经外源酶漆酶和 α - 半乳糖苷酶处理后, 其滋味和香气品质均具有明显的改善^[2], 外源酶 β - 葡萄糖苷酶处理绿茶汤对其有明显的增香作用^[9]。

黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 属于丝状真菌, 被美国食品药品监督管理局 (food and drugs administration, FDA) 认定为安全菌种之一, 并且是常用的食品酶制剂生产菌株, 它在不同的培养基中发酵能够产生多种不同类别的胞外酶, 包括糖苷酶、淀粉酶、蛋白酶等^[10]。最近研究发现, 黑曲霉胞外酶液处理绿茶粉后, 2- 乙基呋喃和癸醛含量显著增加, 且花香和青草香味增强, 整体香气品质显著改善^[9]。但是, 目前尚未系统对比研究不同培养基发酵的黑曲霉胞外酶液对茶叶香气的影响, 因此还不明确不同培养基制备的胞外酶液对茶叶香气的改良效果, 限制了应用黑曲霉胞外酶改良茶叶风味品质的技术开发。本文以福建特色乌龙茶为研究对象, 采用 5 种不同培养基 (PDA、察氏、果胶、麦麸和柚皮) 制备黑曲霉胞外粗酶液, 研究不同胞外酶对茶叶水溶液香气的影响, 为高效制备改良茶叶香气的黑曲霉胞外酶及开发新型茶叶风味改良技术奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑曲霉菌株 (编号为 41034) 购于中国工业微生物菌种保藏管理中心 (CICC); 麦麸和马铃薯购于厦门当地市场; 柚皮粉是由新鲜柚皮烘干后粉碎过 40 目筛; 食品级果胶购于厦门唯康食品科技有限公司; 秋季铁观音乌龙茶叶购于厦门当地超市; 正构烷烃 ($C_8 \sim C_{20}$) 和环己酮购于 Sigma-Aldrich (中国) 公司; 正己醛、苯甲醛、月桂烯、乙酸己酯、柠檬烯、苯乙醛等标准品分别购于美国 Sigma-Aldrich (中国) 公司和英国 Alfa Aesar (中国) 公司; 其余试剂均为分析纯, 购于上海化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

小型高速药物粉碎机, 上海烨昌食品机械有限公司; SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台, 苏州净化设备有限公司; 可见光分光光度计, 上海尤尼柯仪器有限公司; HQ45B 恒温摇床, 中国科学院武汉科学仪器厂; JKOPZ 电热恒温培养箱, 上海跃进医疗器械厂; HH-4 数显恒温水浴锅, 国华电器有限公司; QP-2010 Plus 气相色谱-质谱联仪, 日本岛津公司; Rtx-5MS 毛细管色谱柱 (60 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m), 美国 Restek 公司; HH-157330-U 手动 SPME 进样器、50/30 μ m CAR/PDMS 萃取头, 美国 Supelco 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 孢子悬液的制备

称取去皮马铃薯 200 g, 加入约 1 L 水煮沸 20 min, 用纱布滤渣后, 在马铃薯煮出液中加入蔗糖 20 g, 加水定容至 1 L, 加入琼脂 18 g, 加热溶解后取 5 mL 装入试管, 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min 制备斜面培养基, 接种黑曲霉置于 30 °C 培养箱中活化培养 3~4 d, 得到成熟孢子^[12]。之后采用质量分数 0.75% 的无菌氯化钠溶液洗脱孢子, 并倒入带有无菌玻璃珠的锥形瓶中, 再加入质量分数 0.75% 的无菌氯化钠溶液振荡均匀, 稀释至 $A_{600} = 2.0$ (孢子浓度约为 1×10^8 个/mL), 即为单孢子菌悬液。

1.3.2 黑曲霉发酵粗酶液的制备

将孢子悬液接种到以下 5 种培养基中并进行培养。

1) 马铃薯葡萄糖液体培养基 (以下简称 PDA): 称取去皮马铃薯 200 g 并切小块, 再加适量水煮沸 20 min, 过滤马铃薯渣, 滤液中加入 20 g 葡萄糖, 溶解后加水至 1 L。量取 30 mL 制备好的培养基分装到 250 mL 的摇瓶中, 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却后接种 2 mL 孢子悬液 (1×10^8 个/mL), 转速 180 r/min, 30 °C 培养 6 d。

2) 察氏液体培养基 (以下简称察氏): 参照常川察氏培养基配方^[12], 准确称量硝酸钠 3.00 g, 磷酸氢二钾 1.00 g, 氯化钾 0.50 g, 硫酸亚铁 0.01 g, 硫酸镁 0.50 g, 蔗糖 30.00 g, 加水定容至 1 L。量取 30 mL 制备好的培养基分装到 250 mL 的摇瓶中, 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却后接种 2 mL 孢子悬液 (1×10^8 个/mL), 转速 180 r/min, 30 °C 培养 6 d。

3) 果胶液体培养基 (以下简称果胶): 参考 Thakur 等^[13]发酵生产果胶酶的配方, 准确称量氯化钾 0.50 g, 七水合硫酸镁 0.10 g, 柠檬酸三钠二水合物 1.00 g, 无水柠檬酸 1.00 g, 酵母提取物 1.00 g, 干酪素水解物 1.00 g, 果胶 10.00 g, 加水定容到 1 L, 用 1 mol/L 的 HCl 调 pH=4.0。量取 25 mL 分装到 250 mL 的摇瓶中, 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却后接种 2 mL 孢子悬液 (1×10^8 个/mL), 转速 180 r/min, 30 °C 培养 4 d。

4) 麦麸固体培养基 (以下简称麦麸): 参考 Kumar 等^[14]发酵黑曲霉果胶酶和纤维素酶的配方, 准确称量硫酸铵 1.00 g, 硫酸镁 5.00 g, 七水合硫酸亚铁 0.005 g, 磷酸二氢钾 5.00 g, 溶于 1 L 超纯水中, 并调节 pH=4.8, 即为无机盐溶液。准确量取 2.10 g 麦麸、1.40 g 柚皮和 6.5 mL 无机盐溶液分装到 250 mL 的锥形瓶中, 搅拌均匀, 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却后接种 2 mL 孢子悬液 (1×10^8 个/mL), 30 °C 培养箱中静置培养 6 d。

5) 柚皮粉固体培养基 (以下简称柚皮): 参考本实验室前期发酵棘孢曲霉的配方^[15]。准确称量柚皮粉 5.00 g, 硫酸铵 0.50 g, 并加入 8 mL 水溶解, 然后分装到 250 mL 锥形瓶中, 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却后接种 2 mL 孢子悬液 (1×10^8 个/mL), 30 °C 培养箱中静置培养 8 d。

发酵完成后, 将液体培养基制备的发酵液进行抽滤去除菌体, 得到粗酶液 (PDA 粗酶、察氏粗酶、果胶粗酶), 放入 -20 °C 冰箱保存备用。麦麸和柚皮的固态发酵产物中分别加入 30 mL 的 pH=7.0 的磷酸盐缓冲液, 20 °C、180 r/min 振荡洗脱 1 h 后进行抽滤, 制备得到麦麸粗酶和柚皮粗酶, 放入 -20 °C 冰箱保存备用。

1.3.3 黑曲霉发酵粗酶液处理乌龙茶水溶液

称取 2 g 乌龙茶叶置于 50 mL 萃取瓶中, 同时加入 30 mL 粗酶液, 再加入 10 μ L 环己酮 (1 g/L) 作为内标, 拧紧瓶盖后, 置于 40 °C 水浴锅中反应 60 min。空白对照分别为: 1) 乌龙茶叶中加入 30 mL 超纯水; 2) 30 mL 酶液加上 2 mL 水。

1.3.4 乌龙茶水溶液挥发性成分的固相微萃取及 GC-MS 分析

将 50/30 μ m CAR/PDMS 萃取头插入气相色谱进样口中, 230 °C 老化 3 min, 载气的流量为 3 mL/min。将老化后的萃取头插入萃取瓶并停留在萃取瓶顶空部分, 吸附 20 min。吸附完成后, 将固相微萃取头插到气相色谱的进样口解吸 3 min, 按照如下条件进行 GC-MS 分析。

色谱柱为 Rtx-5MS (60 m×0.32 mm×0.25 μm)，以高纯氦气（纯度 99.999%）作为载气，进样口温度为 230 ℃，不分流进样。柱流量设为 3 mL/min，柱温度初始为 50 ℃保持 2 min，2 ℃/min 升温至 120 ℃，再 5 ℃/min 升温至 200 ℃，在 200 ℃保持 1 min。离子源温度为 220 ℃，电离方式为 EI，电离能量为 0.80 kV，接口温度为 250 ℃，扫描方式选择 SCAN 模式进行定性分析，离子碎片的扫描范围 (*m/z*) 为 35~500。溶剂延迟时间为 1.5 min。

对挥发性成分采用 3 种方式进行定性：1) 运用质谱数据库 (NIST08、NIST08s、FFNSC1.3) 进行相似度检索，根据不同物质的基峰、质荷比以及相对峰度进行串连检索与人工解析，根据质谱匹配度大于 80% 的标准进行物质鉴定；2) 将待测物质的特征离子与标准品比较进行定性；3) 计算待测物质的保留指数，与文献报道及标准品进行对比定性。保留指数运算参考 Dool 等^[16]的方法： $RI_x = 100n + 100[t(m) - t(n)]/[t(n+1) - t(n)]$ ，式中： RI_x 为待测定成分的保留指数； $t(m)$ 为待测成分的调整保留时间； $t(n)$ 表示具有 n 个碳原子数的正构烷烃的调整保留时间； $t(n+1)$ 表示具有 $n+1$ 个碳原子数正构烷烃的调整保留时间。

定量分析时质谱扫描方式设为 SIM 模式，具有标准品的化合物采用的该物质标准曲线用外标法定量；不具有标准品的化合物通过计算与环己酮峰面积的比值来进行相对定量。

在定性分析的基础上，进一步计算香气强度值 (odour activity value, OAV) 用于评价香气贡献成分，其计算公式为： $OAV = \text{挥发性物质浓度} / \text{风味阈值}$ 。

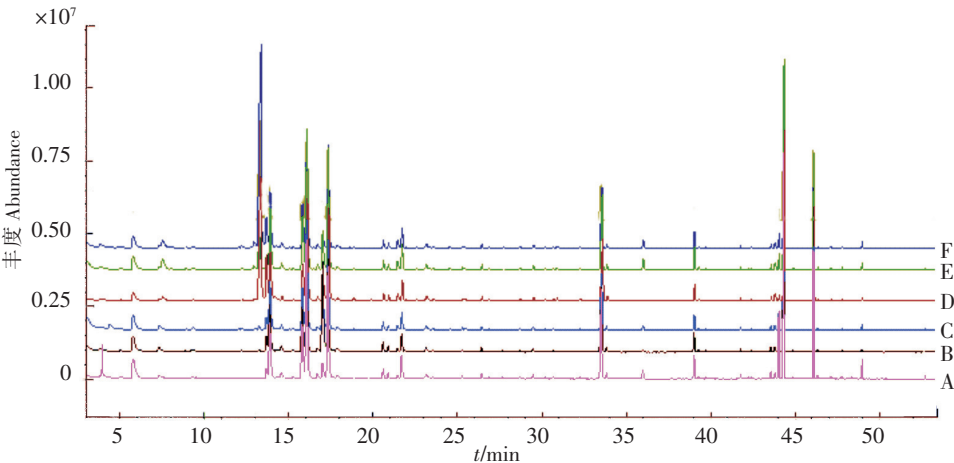
1.4 统计分析

参照相关文献^[17]，通过 Microsoft Office Excel 2010 软件计算实验数据的均值和标准差，并绘制相关图表，利用 SPSS 19.0 软件对挥发性成分含量的数据进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 挥发性成分的定性分析

对黑曲霉粗酶液处理前后的乌龙茶水溶液挥发性成分进行 GC-MS 分析，得到其总离子流图 (见图 1)，根据相似度检索、特征离子碎片、标准品比对并参考相关文献，共鉴定出 28 种挥发性成分 (见表 1)，包括酯类 10 种、醛类 4 种、醇类 5 种、烯烃类 6 种和其他类化合物 3 种。由此可知，主要挥发性成分为酯类、醛类和醇类，这与有关研究^[18]对乌龙茶叶挥发性成分种类的研究结果基本一致。



说明：A—乌龙茶水溶液；B—PDA 粗酶处理组；C—察氏粗酶处理组；D—果胶粗酶处理组；E—麦麸粗酶处理组；F—柚皮粗酶处理组。
Notes: A—oolong tea infusions; B—treatment of the crude enzyme of PDA; C—treatment of the crude enzyme of Czapek's; D—treatment of the crude enzyme of pectin; E—treatment of the crude enzyme of wheat bran; F—treatment of the crude enzyme of pomelo peel media.

图 1 黑曲霉粗酶液处理乌龙茶水溶液挥发性成分的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of volatiles of oolong tea infusions treated by *Aspergillus niger* crude enzymes

表 1 黑曲霉粗酶液处理乌龙茶水溶液挥发性成分鉴定结果

Tab. 1 Identification of volatiles of oolong tea infusions treated by *Aspergillus niger* crude enzymes

序号 Number	保留时间 Retention time/min	挥发性成分 Volatiles	保留指数 a Retention index a	保留指数 b Retention index b	特征离子碎片 Characteristic ion fragment			鉴定依据 Identification basis
1	5.79	正己醛 Hexanal	802	802	44	41	56	Std MS
2	7.52	顺式-3-己烯醇 3-cis-hexenol	853	843	67	41	82	MS
3	12.21	苯甲醛 Benzaldehyde	959	966	105	106	77	Std MS
4	13.84	月桂烯 Myrcene	991	990	41	93	136	Std MS
5	15.20	乙酸己酯 Hexyl acetate	1015	1014	43	61	84	Std MS
6	15.75	p-伞花烃 P-Cymene	1024	1028	119	134	91	MS
7	16.02	柠檬烯 Cinene	1028	1029	68	136	93	Std MS
8	16.71	顺式-β-罗勒烯 β-cis-Ocimene	1038	1038	93	92	91	MS
9	16.94	苯乙醛 Phenyl acetaldehyde	1044	1049	91	92	120	Std MS
10	17.37	反式-β-罗勒烯 β-trans-ocimene	1049	1048	93	91	80	MS
11	20.53	芳樟醇 Linalool	1101	1104	71	43	93	Std MS
12	21.38	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	1113	1111	91	122	65	MS
13	23.09	苯乙腈 Phenyl acetonitrile	1139	1144	117	90	63	Std MS
14	25.24	苯甲酸乙酯 Ethyl benzoate	1171	1170	105	150	77	Std MS
15	26.38	顺式-丁酸-3-己烯酯 3-cis-hexenyl isobutanoate	1188	1188	67	82	43	MS
16	29.20	橙花醇 Nerol	1230	1227	69	41	93	MS
17	29.44	2-甲基丁酸叶醇酯 cis-3-hexenyl 2-methylbutyate	1234	1231	67	82	57	MS
18	29.98	顺式-柠檬醛 cis-citral	1242	1242	41	69	109	Std MS
19	30.12	L-香芹酮 L-carvone	1244	1250	82	54	150	Std MS
20	30.62	己酸异戊酯 Isopentyl-hexanoate	1252	1251	70	43	99	MS
21	33.49	吲哚 Indole	1295	1295	117	90	89	Std MS
22	38.99	己酸叶醇酯 cis-3-hexenyl hexanoate	1386	1380	43	69	117	Std MS
23	39.25	己酸己酯 Hexyl hexanoate	1390	1388	43	200	117	Std MS
24	39.67	异丁酸苯乙酯 Phenethyl isobutyrate	1397	1396	104	43	71	Std MS
25	43.55	2-甲基丁酸-2-苯乙酯 Phenethyl 2-methylbutyrate	1491	1489	77	57	104	MS
26	44.31	α-法呢烯 α-Farnesene	1512	1505	93	204	41	MS
27	46.08	橙花叔醇 Nerolidol	1569	1564	69	41	93	Std MS
28	46.32	苯甲酸叶醇酯 cis-3-hexenyl benzoate	1576	1573	82	105	123	MS

说明: 保留指数为 R_{tx}-5MS 色谱柱结果; 保留指数 a 为本研究得到的数值, 保留指数 b 为文献报道的数值; Std 为标准品定性, MS 为质谱库检索结果, 文献报道的保留指数均来源于网站(<http://webbook.nist.gov/chemistry>)。

Notes: The retention index is the result of T_{tx}-5MS; the retention index a is the value obtained in this study; the retention index b is the value reported in the literature; Std is the standard qualitative; MS is the mass spectral library search result, and the retention index of the literature is derived from the website(<http://webbook.nist.gov/chemistry>).

2.2 挥发性成分的定量分析

由表 2 可知, 乌龙茶水溶液、PDA 酶处理组、察氏粗酶处理组、果胶粗酶处理组、麦麸粗酶处理组和柚皮粗酶处理组分别鉴定出 25, 26, 26, 27, 28 和 27 种挥发性成分。

表 2 黑曲霉粗酶液处理乌龙茶水溶液的挥发性成分定量分析结果

Tab. 2 Quantification of the volatiles of extracted from oolong tea infusions treated by *Aspergillus niger* crude enzymes

						μg/kg					
序号 Number	挥发性成分 Volatiles	标准曲线 Standard curves	R ²	范围 Range/ (μg · L ⁻¹)	OAV						
					乌龙茶水溶液 Aqueous of oolong tea	PDA 粗酶处理组 Treat with PDA	察氏粗酶处理组 Treat with Czapek's	果胶粗酶处理组 Treat with Pectin	麦麸粗酶处理组 Treat with Wheat bran	柚皮粗酶处理组 Treat with Pomelo	
酯类 Esters	5 乙酸己酯 Hexyl hexanoate	Y = 512.51 X - 0.25	0.996	8 ~ 167	100 ± 0 ^b	101 ± 1 ^b	103 ± 1 ^a	102 ± 1 ^b	100 ± 1 ^b	100 ± 1 ^b	
	14 苯甲酸乙酯 Ethyl benzoate	Y = 342.02 X - 0.38	0.996	8 ~ 167	228 ± 0 ^b	232 ± 1 ^a	232 ± 1 ^a	233 ± 0 ^a	232 ± 4 ^a	233 ± 1 ^a	
	15 顺式 - 丁酸 - 3 - 己烯酯 3-cis-hexenyl isobutanoate	A	—	—	187 ± 9 ^{abc}	145 ± 24 ^{cd}	143 ± 15 ^d	168 ± 32 ^{bcd}	211 ± 20 ^{ab}	227 ± 22 ^a	
	17 2 - 甲基丁酸叶醇酯 cis-3-hexenyl 2-methyl-butyate	A	—	—	168 ± 10 ^b	143 ± 14 ^{bc}	127 ± 4 ^c	147 ± 16 ^{bc}	231 ± 9 ^a	211 ± 19 ^a	
	20 己酸异戊酯 Isopentyl-hexanoate	A	—	—	95 ± 4 ^{bc}	77 ± 14 ^{cd}	71 ± 3 ^d	85 ± 5 ^{bcd}	98 ± 13 ^b	120 ± 9 ^a	
	22 己酸叶醇酯 cis-3-hexenyl hexanoate	Y = 1182.50 X - 0.14	0.997	1 ~ 11	35 ± 1 ^{bc}	37 ± 3 ^{abc}	39 ± 1 ^{abc}	39 ± 0 ^{abc}	35 ± 4 ^{bc}	40 ± 1 ^a	
	23 己酸己酯 Hexyl hexanoate	Y = 1124.80 X - 0.11	0.998	1 ~ 11	22 ± 0 ^{ab}	22 ± 1 ^{ab}	22 ± 0 ^{ab}	22 ± 0 ^{ab}	22 ± 1 ^{ab}	23 ± 0 ^a	
	24 异丁酸苯乙酯 Phenethyl isobutyrate	Y = 508.31 X - 0.04	0.998	1 ~ 11	19 ± 0 ^b	20 ± 0 ^{ab}	20 ± 0 ^{ab}	20 ± 0 ^{ab}	20 ± 1 ^{ab}	21 ± 0 ^a	
25 2 - 甲基丁酸 - 2 - 苯乙酯 Phenethyl 2-methylbutyrate	A	—	—	198 ± 1 ^{bc}	152 ± 29 ^{cd}	121 ± 24 ^d	182 ± 11 ^{bcd}	246 ± 27 ^{ab}	282 ± 43 ^a		
28 苯甲酸叶醇酯 cis-3-hexenyl benzoate	A	—	—	105 ± 4 ^b	71 ± 8 ^{cd}	54 ± 9 ^d	86 ± 7 ^{bc}	105 ± 19 ^b	143 ± 19 ^a		
醛类 Aldehyde	1 正己醛 Hexanal	Y = 10.24 X + 0.03	0.995	20 ~ 160	1514 ± 226 ^c	1381 ± 111 ^c	1996 ± 78 ^a	1822 ± 98 ^{ab}	506 ± 59 ^e	1109 ± 82 ^d	
	3 苯甲醛 Benzaldehyde	Y = 27.87 X - 0.02	0.998	11 ~ 85	—	—	—	—	306 ± 46	—	
	9 苯乙醛 Phenyl acetaldehyde	Y = 27.52 X - 0.02	0.998	20 ~ 160	526 ± 44 ^d	4141 ± 608 ^a	3484 ± 95 ^b	2028 ± 35 ^c	798 ± 94 ^d	2004 ± 59 ^c	
	18 顺式 - 柠檬醛 cis-citral	Y = 85.06 X - 0.01	0.997	5 ~ 43	38 ± 1 ^c	39 ± 1 ^c	40 ± 0 ^{bc}	41 ± 1 ^b	42 ± 2 ^{ab}	44 ± 0 ^a	
醇类 Alcohols	2 顺式 - 3 - 己烯醇 3-cis-hexenol	A	—	—	—	—	—	667 ± 5 ^b	760 ± 92 ^a	520 ± 32 ^c	
	11 芳樟醇 Linalool	Y = 59.12 X + 0.00	0.998	11 ~ 85	128 ± 10 ^c	189 ± 22 ^b	161 ± 12 ^{bc}	177 ± 6 ^{bc}	153 ± 37 ^{bc}	269 ± 27 ^a	
	12 苯乙醇 Phenylethyl alcohol	A	—	—	195 ± 16 ^d	212 ± 24 ^d	202 ± 22 ^d	394 ± 20 ^c	732 ± 23 ^a	542 ± 45 ^b	
	16 橙花醇 Nerol	A	—	—	—	102 ± 4 ^b	104 ± 4 ^b	108 ± 1 ^{ab}	106 ± 12 ^b	111 ± 0 ^{ab}	
	27 橙花叔醇 Nerolidol	Y = 6.78 X - 0.01	0.996	21 ~ 442	10265 ± 685 ^{cd}	9246 ± 719 ^d	11214 ± 536 ^c	13451 ± 423 ^{ab}	11982 ± 371 ^{bc}	15196 ± 1570 ^a	
烯炔类 Olefins	4 月桂烯 Myrcene	Y = 428.57 X + 0.01	0.996	3 ~ 21	181 ± 43 ^{bc}	158 ± 16 ^c	257 ± 16 ^{ab}	205 ± 36 ^{ab}	290 ± 78 ^a	173 ± 8 ^{bc}	
	6 <i>p</i> - 伞花烃 <i>p</i> -cymene	A	—	—	3267 ± 273 ^b	2538 ± 457 ^c	2683 ± 117 ^c	2701 ± 60 ^c	4168 ± 25 ^a	3392 ± 24 ^b	
	7 柠檬烯 Cinene	Y = 865.95 X + 0.02	0.996	3 ~ 21	207 ± 32 ^{bc}	223 ± 61 ^{bc}	292 ± 19 ^{ab}	242 ± 30 ^{abc}	324 ± 88 ^a	188 ± 10 ^c	
	8 顺式 -β - 罗勒烯 β-cis-ocimene	A	—	—	205 ± 15 ^{abc}	157 ± 47 ^{cd}	172 ± 5 ^{bcd}	158 ± 3 ^{cd}	250 ± 31 ^a	215 ± 14 ^{ab}	
	10 反式 -β - 罗勒烯 β-trans-ocimene	A	—	—	6065 ± 687 ^b	5979 ± 540 ^b	4872 ± 217 ^c	4510 ± 235 ^c	7233 ± 565 ^a	6455 ± 238 ^{ab}	
	26 α - 法呢烯 α-farnesene	A	—	—	6476 ± 159 ^b	6325 ± 417 ^b	4713 ± 603 ^c	5519 ± 406 ^{bc}	9199 ± 791 ^a	8701 ± 526 ^a	
其他类 Others	13 苯乙腈 Phenylacetonitrile	Y = 18.38 X - 0.02	0.998	20 ~ 160	497 ± 64 ^c	551 ± 24 ^{bc}	692 ± 51 ^{ab}	695 ± 29 ^{ab}	671 ± 116 ^{ab}	690 ± 42 ^{ab}	
	19 <i>L</i> - 香芹酮 <i>L</i> -carvone	Y = 45.03 X - 0.03	0.999	8 ~ 167	171 ± 5 ^c	184 ± 10 ^c	190 ± 2 ^{bc}	214 ± 3 ^a	210 ± 20 ^{ab}	224 ± 2 ^a	
	21 吲哚 Indole	Y = 6.47 X - 0.05	0.995	200 ~ 1600	12820 ± 680 ^c	14119 ± 590 ^{de}	16321 ± 355 ^{bc}	17783 ± 165 ^b	16604 ± 312 ^{bc}	21030 ± 478 ^a	

说明：该序号为定性表中对应的序号；A 为采用内标法进行定量；每一行中，不同的字母（a，b，c，d，e）代表数值间存在着显著性差异（ $P < 0.05$ ）。

Notes: The serial number is the corresponding serial number in the qualitative table; A is quantified by the internal standard method; different letters（a，b，c，d，e）represent significant.

对于酯类物质, 乌龙茶水溶液中含有量较高的 ($\geq 100\text{ }\mu\text{g/kg}$) 为乙酸己酯、苯甲酸乙酯、顺式-丁酸-3-己烯酯、2-甲基丁酸叶醇酯、2-甲基丁酸-2-苯乙酯和苯甲酸叶醇酯。与乌龙茶水溶液相比, 麦麸粗酶处理组酯类物质中的顺式-丁酸-3-己烯酯和 2-甲基丁酸叶醇酯含量分别增加了 $24\text{ }\mu\text{g/kg}$ 和 $63\text{ }\mu\text{g/kg}$; 柚皮粗酶处理组中的顺式-丁酸-3-己烯酯、2-甲基丁酸叶醇酯、己酸异戊酯、2-甲基丁酸-2-苯乙酯和苯甲酸叶醇酯含量均显著增加。茶叶中酯类是由于脂氧合酶介导脂质氧化而产生的^[8], 这表明在麦麸粗酶和柚皮粗酶中可能存在脂氧合酶。

乌龙茶水溶液中醛类物质含量较高的 ($> 500\text{ }\mu\text{g/kg}$) 为正己醛和苯乙醛。与乌龙茶水溶液相比, 察氏粗酶处理组和果胶粗酶处理组醛类物质中的正己醛含量分别增加了 482 和 $308\text{ }\mu\text{g/kg}$, 且 5 种粗酶处理后苯乙醛含量均显著增加。此外, 在麦麸粗酶处理组中增加了苯甲醛。相关研究^[19]发现, 茶叶中存在香气化合物的单糖苷和二糖苷类前体, 并已知苯甲醛的糖苷前体为野黑樱苷 (β -D-苯乙腈葡萄糖苷)。同时, 相关研究^[18,20]表明, β -葡萄糖苷酶和黑曲霉胞外酶液处理速溶乌龙茶粉后, 苯甲醛、苯乙醛和香叶醇含量显著增加。本研究结果与相关文献对比说明, 不同培养基制得的粗酶液中含有不同种类糖苷酶水解酶。

乌龙茶水溶液中醇类物质含量较高的 ($> 100\text{ }\mu\text{g/kg}$) 为芳樟醇、苯乙醇和橙花叔醇。与之对比, 柚皮粗酶处理组中芳樟醇和橙花叔醇的含量分别增加了 141 和 $4931\text{ }\mu\text{g/kg}$; 麦麸粗酶处理组中苯乙醇含量增加了 $537\text{ }\mu\text{g/kg}$; 果胶粗酶处理组、麦麸粗酶处理组和柚皮粗酶处理组中新增了顺式-3-己烯醇化合物。此外, 5 种粗酶液处理都可以产生橙花醇化合物。相关文献^[20]报道, 苯乙醇的前体为 β -樱草糖苷类物质, 顺式-3-己烯醇的前体为 β -葡萄糖苷和 β -樱草糖苷, 橙花醇的前体为 β -樱草糖苷。这些研究表明, 黑曲霉发酵粗酶液中可能含有 β -葡萄糖苷酶和 β -樱草糖苷酶。

乌龙茶水溶液中烯炔类物质含量较高的 ($> 3000\text{ }\mu\text{g/kg}$) 为 p -伞花炔、反式- β -罗勒烯和 α -法呢烯, 其中 α -法呢烯是乌龙茶叶中含量较高的烯炔, 这与文献报道一致^[2]。与乌龙茶水溶液相比, 麦麸粗酶处理组和柚皮粗酶处理组中, α -法呢烯的含量分别增加了 2723 和 $2225\text{ }\mu\text{g/kg}$ 。已有研究表明^[2], 漆酶和 α -半乳糖苷酶处理乌龙茶叶能显著增加 α -法呢烯的含量, 这表明麦麸粗酶和柚皮粗酶中可能含有漆酶和 α -半乳糖苷酶。

此外, 乌龙茶水溶液中含有量较高的还有吲哚 ($12\ 820\text{ }\mu\text{g/kg}$), 该结果与 Lin 等^[21]发现乌龙茶叶具有较高含量的 α -法呢烯、橙花叔醇和吲哚的结果相似。

2.3 挥发性成分的 OAV 分析

参考相关文献报道的香气阈值^[10,22-24], 计算乌龙茶水溶液及黑曲霉粗酶处理后的样品中挥发性成分的 OAV 值, 结果见表 3。由表 3 可知, 乌龙茶水溶液、PDA 粗酶、察氏粗酶、果胶粗酶、麦麸粗酶和柚皮粗酶处理组中香气化合物的总 OAV 分别为 101.0 , 130.8 , 138.1 , 132.1 , 115.6 , 142.9 , 表明黑曲霉粗酶处理乌龙茶水溶液能明显增加总香气强度。此外, 由图 2 和表 3 可知, 醛类、醇类和烯炔类物质是乌龙茶水溶液的重要香气贡献成分, 该结果与以往报道乌龙茶中主要香气化合物为醇类和醛类是相似的^[25]。

醛类中, 正己醛 (OAV = 10.1 , 青草香) 和苯乙醛 (OAV = 5.6 , 甜香) 对乌龙茶水溶液的香气具有影响。与乌龙茶水溶液相比, 在察氏粗酶和果胶粗酶处理组中, 正己醛 (察氏粗酶处理组 OAV = 13.3 , 果胶粗酶处理组 OAV = 12.1) 的 OAV 均有增加; 在 PDA 粗酶、察氏粗酶、果胶粗酶、麦麸粗酶和柚皮粗酶处理组中, 苯乙醛 (PDA 粗酶处理组 OAV = 43.8 , 察氏粗酶处理组 OAV = 36.9 , 果胶粗酶处理组 OAV = 21.5 , 麦麸粗酶处理组 OAV = 8.4 , 柚皮粗酶处理组 OAV = 21.2) 的 OAV 也是明显增加。表明黑曲霉粗酶处理可增加正己醛、苯乙醛的香气强度值, 这两种成分主要与青草香和甜香有关。因此, 本研究与相关文献^[9]报道的 PDA 培养基发酵的黑曲霉胞外酶液处理绿茶粉后减弱了青草香和花香是不一致的, 其主要原因可能是乌龙茶和绿茶粉的香气特征及其中存在的香气前体的差异。

表 3 黑曲霉粗酶液处理乌龙茶水溶液的挥发性成分 OAV 分析

Tab. 3 OAV of the volatiles of extracted from oolong tea infusions treated by *Aspergillus niger* crude enzymes

	序号 Number	挥发性成分 Volatiles	阈值 Threshold ($\mu\text{g/L}$)	OAV						风味描述 Flavor description
				乌龙茶水溶液 Aqueous of oolong tea	PDA 粗酶处理组 Treat with PDA	察氏粗酶处理组 Treat with Czapek's	果胶粗酶处理组 Treat with Pectin	麦麸粗酶处理组 Treat with Wheat bran	柚皮粗酶处理组 Treat with Pomelo	
酯类 Esters	1	乙酸己酯 Hexyl hexanoate	2	3.3	3.4	3.4	3.4	3.3	3.3	果香 Fruit aroma
合计 Total				3.3	3.4	3.4	3.4	3.3	3.3	
醛类 Aldehyde	2	正己醛 Hexanal	10	10.1	9.2	13.3	12.1	3.4	7.4	青草香 Grass aroma
	3	苯甲醛 Benzaldehyde	800	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	甜香,杏仁味 Sweet, almond
	4	苯乙醛 Phenyl acet-aldehyde	6.3	5.6	43.8	36.9	21.5	8.4	21.2	甜香 Sweet
	5	顺式-柠檬醛 cis-citral	30	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	柠檬味,薄荷味 Lemon, mint
	合计 Total		19.2	56.6	53.8	37.2	15.3	32.1		
醇类 Alcohols	6	顺式-3-己烯醇 3-cis-Hexenol	70	<0.1	<0.1	<0.1	0.6	0.7	0.5	青草香 Grass aroma
	7	芳樟醇 Linalool	6	1.4	2.1	1.8	2.0	1.7	3.0	花香 Floral fragrance
	8	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	750	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.1	<0.1	花香 Floral fragrance
	9	橙花醇 Nerol	300	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	花香 Floral fragrance
	10	橙花叔醇 Nerolidol	15	45.6	41.1	49.8	59.8	53.3	67.5	花香 Floral fragrance
合计 Total				47.3	43.5	51.9	62.6	55.9	71.2	
烯烃类 Olefins	11	月桂烯 Myrcene	15	0.8	0.7	1.1	0.9	1.3	0.8	花香,果香 Floral fragrance, fruit aroma
	12	<i>p</i> -伞花烃 <i>p</i> -cymene	11.4	19.1	14.8	15.7	15.8	24.4	19.8	柑橘香 Citrus
	13	柠檬烯 Cinene	10	1.4	1.5	1.9	1.6	2.2	1.3	柠檬味,青草香 Lemon, grass aroma
	14	顺式- β -罗勒烯 β -cis-ocimene	60	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	青草香,果香 Grass aroma, fruit
	15	反式- β -罗勒烯 β -trans-ocimene	60	6.7	6.6	5.4	5.0	8.0	7.2	青草香,果香 Grass aroma, fruit
	16	α -法呢烯 α -farnesene	nd	—	—	—	—	—	—	木香,甜香 Wood, sweet
合计 Total				28.2	23.8	24.3	23.5	36.2	29.3	
其他类 Others	17	<i>L</i> -香芹酮 <i>L</i> -carvone	50	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	薄荷味 Mint
	18	吲哚 Indole	140	6.1	6.7	7.8	8.5	7.9	10.0	花香 Floral fragrance
合计 Total				6.3	6.9	8.1	8.8	8.2	10.3	
总计 The sum				101.0	130.8	138.1	132.1	115.6	142.9	

说明: nd 表示文献中未报道该化合物的阈值。

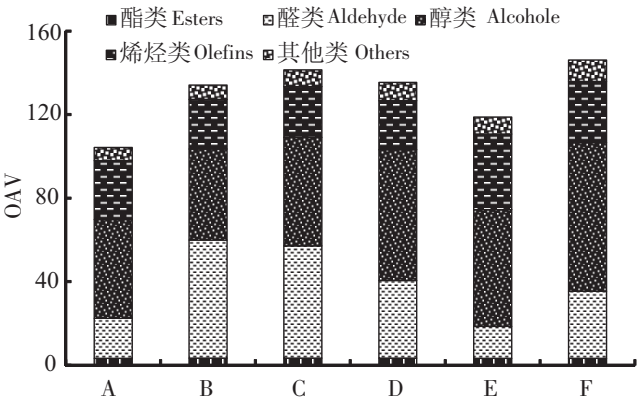
Notes: nd indicates that the threshold of the compound is not reported in the literature.

醇类中, 芳樟醇 (OAV = 1.4, 花香) 和橙花叔醇 (OAV = 45.6, 花香) 对乌龙茶水溶液香气具有重要影响。PDA 粗酶、果胶粗酶和柚皮粗酶处理组芳樟醇的 OAV 分别为 2.1, 2.0, 3.0, 与乌龙茶水溶液相比明显增加; 在察氏粗酶、果胶粗酶、麦麸粗酶和柚皮粗酶处理组中, 橙花叔醇的 OAV 分别为 49.8, 59.8, 53.3 和 67.5, 与乌龙茶水溶液相比增加明显。芳樟醇和橙花叔醇主要呈现出花香气味。因此, 黑曲霉粗酶处理后这两种醇类物质 OAV 的增加与相关研究^[9] 茶梗培养基发酵黑曲霉胞外酶液能显著增加绿茶水溶液花香味的结果相一致。

烯烃类中, *p*-伞花烃 (OAV = 19.1, 柑橘香) 和反式- β -罗勒烯 (OAV = 6.7, 青草香, 果香) 对乌龙茶水溶液香气具有重要影响。在麦麸粗酶和柚皮粗酶处理组中, *p*-伞花烃的 OAV 分别为 24.4 和 19.8, 反式- β -罗勒烯的 OAV 分别为 8.0 和 7.2, 与乌龙茶水溶液相比增加明显。该结果与前人研究^[20] 发现 β -葡萄糖苷酶显著增加乌龙茶水溶液的顺式- β -罗勒烯和反式- β -罗勒烯的 OAVs 值是相似的。

3 结论

从黑曲霉粗酶液处理前后的乌龙茶水溶液中共鉴定出 28 种挥发性化合物, 其中, 正己醛、橙花叔醇、*p*-伞花烃、反式- β -罗勒烯、 α -法呢烯和吡嗪是乌龙茶水溶液中含量较高的挥发性成分; 且正己醛 (OAV = 10.1, 青草香)、苯乙醛 (OAV = 5.6, 甜香)、橙花叔醇 (OAV = 45.6, 花香)、*p*-伞花烃 (OAV = 19.1, 柑橘香) 和反式- β -罗勒烯 (OAV = 6.7, 青草香和果香) 对乌龙茶水溶液香气具有重要影响。黑曲霉粗酶液处理乌龙茶水溶液后, 正己醛、苯乙醛、苯乙醇、橙花叔醇、 α -法呢烯、吡嗪、橙花醇、苯甲醛和顺式-3-己烯醇的含量显著增加, 且苯乙醛、芳樟醇、橙花叔醇和吡嗪的 OAVs 显著增大。5 种不同培养基发酵制备的粗酶处理后各成分含量及 OAV 值增大的规律不同。



说明: A—乌龙茶水溶液; B—PDA 粗酶处理组; C—察氏粗酶处理组; D—果胶粗酶处理组; E—麦麸粗酶处理组; F—柚皮粗酶处理组。
Notes: A—oolong tea infusions; B—treatment of the crude enzyme of PDA; C—treatment of the crude enzyme of Czapek's; D—treatment of the crude enzyme of pectin; E—treatment of the crude enzyme of wheat bran; F—treatment of the crude enzyme of pomelo peel media.
图2 黑曲霉粗酶液处理乌龙茶水溶液中不同类挥发性成分的 OAV
Fig.2 OAV of the different group volatiles of oolong tea infusions treated by *Aspergillus niger* crude enzymes

[参考文献]

[1] ZHAO M, MA Y, WEI Z Z, et al. Determination and comparison of γ -aminobutyric acid (GABA) content in pu-erh and other types of Chinese tea [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2011, 59(8): 3641-3648. DOI:10.1021/jf104601.v.

[2] 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 & Biotechnology, 2015, 53(2): 180-189. DOI:10.17113/ftb.53.02.15.3642.

[3] 于观亭. 中国茶经 [M]. 上海: 外文出版社, 2008.

[4] 陈键, 宋振硕, 王丽丽, 等. 4 种风味铁观音的滋味成分分析 [J]. 茶叶学报, 2018, 59(2): 77-82.

[5] 姚珊珊. 茶叶香气化学研究: 茶叶及香花的香气化学 [D]. 杭州: 浙江大学, 2005.

[6] YANG Z Y, BALDERMANN S, WATANABE N. Recent studies of the volatile compounds in tea [J]. Food Research

- International, 2013, 53(2): 585-599. DOI:10.1016/j.foodres.2013.02.011.
- [7] 张正竹, 宛晓春, 陶冠军. 茶鲜叶中糖苷类香气前体的液质联用分析 [J]. 茶叶科学, 2005, 25(4): 42-48.
- [8] HO C T, ZHENG X, LI S. Tea aroma formation [J]. Food Science & Human Wellness, 2015, 4(1): 9-27.
- [9] 孙其富, 梁月荣, 陆建良. β -葡萄糖苷酶对绿茶汤香气的影响 [J]. 茶叶, 2007, 33(4): 211-213.
- [10] 张珍珍, 卢燕婷, 陈峰, 等. 黑曲霉发酵胞外酶对绿茶茶汤香气和滋味的影响研究 [C] //中国食品科学技术学会. 中国食品科学技术学会第十三届年会论文集. 北京: 中国食品科学技术学会学术部, 2016: 334-335.
- [11] 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. DOI:10.1002/ffj.3402.
- [12] 周德庆. 微生物学教程 [M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2011.
- [13] THAKUR J, GUPTA R. Improvement of tea leaves fermentation through pectinases [J]. Acta Microbiol Immunol Hung, 2012, 59(3): 321-334. DOI:10.1556/AMicr.59.2012.3.3.
- [14] KUMAR S, SHARMA H K, SARKAR B C. Effect of substrate and fermentation conditions on pectinase and cellulase production by *Aspergillus niger* NCIM 548 in submerged (SmF) and solid state fermentation (SSF) [J]. Food Science & Biotechnology, 2011, 20(5): 1289-1298. DOI:10.1007/s10068-011-0178-3.
- [15] 陈红, 倪辉, 李利君, 等. 棘孢曲霉固态发酵柚皮产柚苷酶及其在柑橘果汁脱苦中的应用 [J]. 菌物学报, 2013, 32(6): 1034-1045.
- [16] DOOL H V D, 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: 463-471.
- [17] KASALI A A, LAWAL O A, ABANIKANND A O T F, et al. Citrus essential oil of nigeria part IV: volatile constituents of leaf oils of mandarins (*Citrus reticulata* blanco) from nigeria [J]. Records of Natural Products, 2010, 4(3): 156-162.
- [18] 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 & Preservation, 2018, 42(2): e13500 (1-14). DOI:10.1111/jfpp.13500.
- [19] 项丽慧, 林清霞, 余文权, 等. 茶叶中糖苷类香气前体物质研究进展 [J]. 茶叶学报, 2017, 58(3): 133-138.
- [20] 方可, 李婷, 朱艳冰, 等. β -葡萄糖苷酶有效提升速溶乌龙茶粉末水溶液的花香、果香及青草香 [J]. 现代食品科技, 2018, 34(11): 1-9.
- [21] LIN J, ZHANG P, PAN Z Q, et al. Discrimination of oolong tea (*Camellia sinensis*) varieties based on feature extraction and selection from aromatic profiles analysed by HS-SPME/GC-MS [J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 259-265. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.02.128.
- [22] JOSHI R, GULATI A. Fractionation and identification of minor and aroma-active constituents in Kangra orthodox black tea [J]. Food Chemistry, 2015, 167: 290-298. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.06.112.
- [23] PICCINO S, BOULANGER R, DESCROIX F, et al. Aromatic composition and potent odorants of the “specialty coffee” brew “Bourbon Pointu” correlated to its three trade classifications [J]. Food Research International, 2014, 61(61): 264-271. DOI:10.1016/j.foodres.2013.07.034.
- [24] QIN P Y, MA T J, WU L, et al. Identification of tartary buckwheat tea aroma compounds with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Food Science, 2011, 76(6): 401-407. DOI:10.1111/j.1750-3841.2011.02223.x.
- [25] WANG K B, LIU F, LIU Z H, et al. Analysis of chemical components in oolong tea in relation to perceived quality [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 45(5): 913-920. DOI:10.1111/j.1365-2621.2010.02224.x.

(责任编辑 马建华 英文审校 刘静雯)