蒋鹏飞, 韦惠芳, 史宇婷, 等. 不同外源酶对香椿发酵茶品质的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(16): 33−44. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025120011

JIANG Pengfei, WEI Huifang, SHI Yuting, et al. Effects of Different Exogenous Enzymes on Quality of *Toona sinensis* Fermented Tea[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(16): 33−44. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025120011

·特邀主编专栏—茶饮品全产业链生产关键技术研究与应用（客座主编: 尹军峰、张建勇、许勇泉、崔宏春）·

不同外源酶对香椿发酵茶品质的影响

蒋鹏飞[1], 韦惠芳[2], 史宇婷[1], 李心平[3], 赵丽丽[1], 史冠莹[1], 张　乐[1], 肖作兵[4], 弋朝庆[5], 王赵改[1,*]

（1.河南省农业科学院农产品加工研究中心, 河南郑州 450000;
2.郑州财经学院管理学院, 河南郑州 450044;
3.河南科技大学农业装备工程学院, 河南洛阳 471003;
4.上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240;
5.郑州市三一香椿食品有限公司, 河南登封 452473）

摘　要: 为探究不同外源酶对香椿发酵茶品质的影响，本研究通过在发酵过程中外源添加纤维素酶（cellulase，CE）、风味蛋白酶（flavourzyme，FLA）和多酚氧化酶（polyphenol oxidase，PPO），系统比较不同外源酶处理香椿发酵茶的感官品质、活性成分、抗氧化活性及挥发性风味物质的差异。结果表明：与空白对照组（CK）相比，添加外源酶的 CE 组、FLA 组和 PPO 组的感官评价总分、活性成分含量、DPPH·清除能力和总还原能力均显著增加。其中 CE 组感官评价总分最高，其游离氨基酸、茶多酚、总黄酮、茶黄素和茶红素含量较 CK 组分别提高了 12.44%、8.13%、9.25%、12.50%、9.76%；FLA 组大部分活性成分含量均低于 CE 组或 PPO 组；PPO 组汤色红明亮、叶底明亮，水浸出物（42.63 g/100 g）、可溶性糖（5.27 g/100 g）和茶褐素（15.15 g/100 g）含量均最高。CE 组与 PPO 组均表现出较强的 DPPH·和·OH 清除能力，而 FLA 组的总还原能力最强。四种样品共鉴定出 5 类 74 种挥发性风味物质，其中 43 种共有组分的总相对含量约占各组挥发性风味物质总量的 84% 以上。与 CK 组相比，CE 组、FLA 组、PPO 组香椿发酵茶中检测到更多的醛类、醇类、酯类等挥发性风味物质，其中 PPO 组挥发性风味物质种类和相对含量均最高。通过气味活度值（odor activity value，OAV）和正交偏最小二乘分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis，OPLS-DA）分别筛选出 15 种 OAV>1 的关键挥发性风味物质和 17 种变量投影重要度（variable importance in projection，VIP）>1 的差异挥发性风味物质，其中苯乙醛、对甲基苯甲醛、*β*-石竹烯、*α*-石竹烯、丁香酚、(E)-*β*-紫罗兰酮 6 种化合物被确定为 OAV>1 且 VIP>1 的关键差异挥发性风味物质。综上，PPO 组香椿发酵茶具有茶汤醇厚鲜爽、汤色红明亮、生化成分含量较高、抗氧化活性强、特征风味浓郁等特点，整体品质最优。

关键词: 香椿发酵茶, 外源酶, 活性成分, 挥发性风味物质, 综合评价

中图分类号: TS272.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)16−0033−12

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025120011　　本文网刊:

Effects of Different Exogenous Enzymes on Quality of *Toona sinensis* Fermented Tea

JIANG Pengfei[1], WEI Huifang[2], SHI Yuting[1], LI Xinping[3], ZHAO Lili[1], SHI Guanying[1], ZHANG Le[1], XIAO Zuobing[4], YI Chaoqing[5], WANG Zhaogai[1,*]

（1.Agricultural Products Processing Center, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450000, China;
2.College of Management, Zhengzhou College of Finance and Economics, Zhengzhou 450044, China;

收稿日期: 2025−12−03

基金项目: 河南省重点研发专项（241111111100）; 河南省农业科学院新兴学科发展专项（2024XK04）; 国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目（U24A20474）; 河南省科技攻关项目（252102110124, 252102110081）; 河南省中央引导地方科技发展资金项目（Z20251831027）。

作者简介: 蒋鹏飞（1990−）, 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: jiangpengfei1028@163.com。

*** 通信作者:** 王赵改（1980−）, 女, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: zgwang1999@126.com。

3.College of Agricultural Equipment Engineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China;
4.School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China;
5.Zhengzhou Sanyi Toona Sinensis Food Co., Ltd., Dengfeng 452473, China)

Abstract: To investigate the effects of exogenous enzymes on the quality of *Toona sinensis* fermented tea, this study evaluated the sensory attributes, active components, antioxidant activity, and volatile flavor compounds following treatment with cellulase (CE), flavourzyme (FLA), and polyphenol oxidase (PPO) during fermentation process. Compared with the control group (CK), the CE, FLA, and PPO groups with exogenous enzymes addition showed significantly higher sensory scores, active components content, DPPH· scavenging capacity, and total reducing ability. The CE group exhibited the highest sensory scores and significantly elevated the contents of free amino acids, tea polyphenols, total flavonoids, theaflavins, and thearubigins increasing by 12.44%, 8.13%, 9.25%, 12.50%, and 9.76% compared with the CK group, respectively. The majority of active components content in the FLA group was lower than those in the CE group or PPO group. Notably, the PPO group exhibited a bright red tea liquor and a bright bottom in the leaves, with the highest contents of water extract (42.63 g/100 g), soluble sugar (5.27 g/100 g), and theabrownins (15.15 g/100 g). Both the CE and PPO groups demonstrated strong scavenging capacities for DPPH· and ·OH, while the FLA group exhibited the highest total reducing ability. Gas chromatography-mass spectrometry identified 74 volatile compounds across five chemical classes, with 43 common components accounting for more than 84% of the total relative content in each group. Compared with the CK group, the CE, FLA, and PPO groups detected more aldehydes, alcohols, and esters. Among these, the PPO group demonstrated the highest variety and relative content of volatile flavor compounds. Based on odor activity value (OAV) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA), 15 key volatile flavor compounds (OAV>1) and 17 differential volatile flavor compounds (variable importance in projection, VIP>1) were identified, respectively. Among these, 6 compounds, namely phenylacetaldehyde, p-methyl benzaldehyde, *β*-caryophyllene, *α*-caryophyllene, eugenol and (E)-*β*-lonone, were defined as key differential volatile flavor compounds with both OAV>1 and VIP>1. In conclusion, the PPO group exhibited the best overall quality, characterized by a mellow and fresh tea liquor, bright red color, high level of active components, strong antioxidant activity and a rich characteristic flavor profile.

Key words: *Toona sinensis* fermented tea; exogenous enzymes; active components; volatile flavor compounds; comprehensive evaluation

香椿(*Toona sinensis* (A.Juss.) Roem)在我国已有 2300 多年的栽培历史,是我国特有的集材、菜、药于一体的珍贵木本植物,因其丰富的营养价值、浓郁独特的风味深受广大消费者喜爱[1−3]。香椿茶加工作为香椿产业中的朝阳产业,不仅提高了香椿的附加值,延长了香椿产业链条,而且推动了香椿产业的健康可持续发展[4−5]。前期项目组以新鲜头茬香椿嫩芽为原料,利用红茶制备工艺,经萎凋、揉捻、发酵、干燥等工序制成香椿发酵茶,赢得了市场的认可和消费者喜爱[6−7]。随着国内外研究的持续深入以及消费者对茶叶品质要求不断提高,目前香椿发酵茶在生产中仍面临香气较单一、滋味偏淡薄、水浸出物含量偏低等问题。因此,如何系统提升香椿发酵茶的综合品质,已成为后续研究的重点突破方向。

酶作为一种天然、绿色、高效的生物催化剂在食品工业领域具有广阔的应用前景[8−9],利用酶解发酵技术改善茶叶品质已成为目前研究的热点[9−11]。在茶叶加工过程中添加外源酶,主要利用酶高效的生物催化能力促进茶叶中成分转化,进而提高成品茶的色、香、味和营养价值[12−13]。目前红茶加工中应用较多的外源酶为多酚氧化酶、蛋白酶、纤维素酶、单宁酶等,不同的外源酶在茶叶加工中的作用效果不同[9]。罗晶晶等[14] 研究表明,添加 350 U/mL 木聚糖酶能明显提高萎凋后茶叶中氨基酸含量,而同样浓度的木瓜蛋白酶反而降低了氨基酸含量。传统红茶的加工工艺主要包含萎凋、揉捻、发酵、干燥,其中发酵是红茶品质形成的关键工序[15−17]。红茶发酵的本质是茶叶中酶催化茶多酚等活性成分充分氧化的过程[18]。仝佳音等[19] 研究表明,在发酵过程中添加多酚氧化酶和纤维素酶显著提高茶样中氨基酸、茶多酚、茶黄素含量,其中添加浓度 18 U/mL 的多酚氧化酶茶样整体品质最优。

随着研究的不断深入,学者们逐渐认识到仅依靠优化加工工艺来提高茶叶内源酶活性的方法已无法满足生产需要。因此,通过外源添加酶制剂提高发酵茶叶中酶活性,从而进一步提升红茶品质的方式日益受到关注。基于此,本研究以香椿嫩芽为原料,在发酵过程中分别外源添加纤维素酶、风味蛋白酶和多酚氧化酶,系统比较不同酶处理对香椿发酵茶感官品质、活性成分、抗氧化活性及挥发性成分的影响,并结合偏最小二乘化学计量学方法对其品质特征进行综合评价,筛选出品质最优的外源酶种类,以期为香椿发酵茶的质量控制与品质提升提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红香椿嫩芽 采自河南省登封市三一香椿示范基地,来源为 3 年生红香椿树,采摘标准为一芽二叶;

纤维素酶（20000 U/mL）、500 MG 风味蛋白酶（20000 U/g）　诺维信生物技术有限公司；多酚氧化酶（100000 U/g）　合肥博美生物技术有限公司；福林酚、咖啡碱、谷氨酸、芦丁、葡萄糖　标准品，北京索莱宝生物科技有限公司；没食子酸　标准品，天津市光复精细化工研究所；2-甲基-3-庚酮　标准品，德国 DR 公司；C_5~C_{30}正构烷烃　色谱级，美国 Supelco 公司。

H1850R 高速冷冻离心机　湖南湘仪实验仪器开发有限公司；THW-219 揉捻机　长沙腾汇电子科技有限公司；LHS-100CL 恒温恒湿箱　上海一恒科学仪器有限公司；GENESYS10S 紫外-可见分光光度计　美国 Thermo 公司；8890A-5977B 气相色谱-质谱联用仪、HP-5MS 毛细管色谱柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm）、顶空固相微萃取装置（包括手持式手柄，50/30 μm DVB/CAR/PDMS）　美国安捷伦科技有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　样品制备　采摘的新鲜香椿芽参照红茶发酵工艺制成香椿发酵茶，在 25 ℃ 环境温度下自然萎凋 22 h，使含水量降至约 62%；采用“空压—轻压—重压—空压”循环揉捻 60 min，揉捻转速 58 r/min；将揉捻叶与酶稀释溶液按 5∶1 的质量比混合，酶溶液浓度为 1%，在温度 30 ℃、湿度 95% 的条件下发酵 5 h，对照组加入相同质量的蒸馏水。发酵结束后，先 120 ℃ 高温烘干 15 min，摊凉后 65 ℃ 低温炒制 30 s，最后 90 ℃ 足火烘干至最终含水率为 6% 左右。样品分组：无酶对照组（CK）、纤维素酶（Cellulase，CE）、风味蛋白酶（Flavourzyme，FLA）、多酚氧化酶（Polyphenol Oxidase，PPO），制备好的香椿发酵茶置于干燥器中备用，使用前测定样品的水分含量。

1.2.2　感官审评　准确称取 3.00 g 茶样，使用 150 mL 沸水冲泡 5 min。参考 GB/T 23776-2018《茶叶感官审评方法》中红茶品质评语，制定香椿发酵茶感官审评标准（表 1）。由 5 名专业评茶员组成审评小组，在 25±2 ℃ 的洁净实验室中对香椿发酵茶的外形、汤色、香气、滋味和叶底五项因子进行评价。茶样的最终感官审评总分为 100 分，其中外形占 20%，汤色占 15%，香气占 25%，滋味占 30%，叶底占 10%。

1.2.3　活性成分检测　水浸出物含量：参照 GB/T 8305-2013《茶水浸出物测定》方法测定；茶多酚含量：参照 GB/T 8313-2018《茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法》中福林酚比色法；咖啡碱含量：参照 GB/T 8312-2013《茶咖啡碱测定》中紫外分光光度法；游离氨基酸总量：参照 GB/T 8314-2013《茶游离氨基酸总量的测定》中水合茚三酮比色法。可溶性糖含量：采用蒽酮-硫酸比色法[6]，标准曲线为 y=0.0078x+0.0076（R^2=0.9991）；总黄酮含量：采用 $Al(NO_3)_3$-$NaNO_2$-NaOH 分光光度法[6]，标准曲线为 y=0.001x+0.0029（R^2=0.9990）；茶三素含量：采用系统比色法测定[20]。

1.2.4　抗氧化活性测定

1.2.4.1　DPPH·清除能力测定　参考 WANG 等[21] 和赵甜甜等[4] 方法，并稍作修改。配制 1、0.5、0.1、0.05、0.01 mg/mL 适度稀释的茶汤，分别取 2 mL 稀释后的茶汤于试管中，加入 2 mL 0.1 mmol/L DPPH 溶液（无水乙醇溶解），充分摇匀后，避光反应 30 min，于 517 nm 波长处测定吸光度。DPPH·清除率按式（1）计算：

$$\text{DPPH·清除率}(\%)=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right)\times 100 \qquad \text{式（1）}$$

式中：A_1 为样品溶液吸光度；A_2 为无水乙醇代替 DPPH 溶液的对照试验吸光度；A_0 为蒸馏水代替样品溶液的空白试验吸光度。

1.2.4.2　·OH 清除能力测定　参考 WANG 等[21] 和赵甜甜等[4] 方法，并稍作修改。配制 50、25、10、5、1 mg/mL 适度稀释的茶汤，分别取 1 mL 稀释后的茶汤于试管中，依次加入 9 mmol/L $FeSO_4$ 溶液、9 mmol/L 水杨酸溶液、8.8 mmol/L H_2O_2 溶液各 1 mL，在 37 ℃ 水浴加热 30 min 后，于 510 nm 测定吸光度。·OH 清除率按式（2）计算：

$$\text{·OH清除率}(\%)=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right)\times 100 \qquad \text{式（2）}$$

式中：A_1 为样品溶液吸光度；A_2 为蒸馏水代替 H_2O_2 溶液的对照试验吸光度；A_0 为蒸馏水代替样品溶液的空白试验吸光度。

1.2.4.3　总还原力测定　参考 WANG 等[21] 和赵甜甜等[4] 方法，并稍作修改。配制 4、3、2、1、0.5 mg/mL 适度稀释的茶汤，分别取 1 mL 稀释后的茶汤于试管中，加入 2.5 mL 0.2 mmol/L 磷酸盐缓冲液（pH6.6）和 2.5 mL 1% 铁氰化钾溶液，充分混合后 50 ℃ 反应 20 min，迅速冷却至室温，再加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸溶液终止反应。离心后精确吸取 2.5 mL 上清液，并加入 0.5 mL 0.1% 的三氯化铁溶液和 2.5 mL 蒸馏水，混合均匀后，室温静置 10 min，于 700 nm 处测定吸光度。

表 1　香椿发酵茶感官审评标准

Table 1　Sensory evaluation scoring for *Toona sinensis* fermented tea

级别	外形	汤色	香气	滋味	叶底
高（90~100分）	条索紧结，锋苗显露，乌润显毫	红明亮	香椿味和甜味融合，浓郁持久	醇厚鲜爽	嫩匀多芽尖，明亮
中（80~89分）	条索紧结，有锋苗，尚乌润稍显毫	橙红亮	香椿味和甜味尚融合，较浓郁	尚醇厚，尚鲜爽	嫩尚匀，尚明亮
低（70~79分）	条索尚紧结，色泽欠乌润	尚红亮	香椿味突出，甜味不明显	尚醇厚，青涩	尚嫩，尚亮，匀欠齐

1.2.5 挥发性成分测定

1.2.5.1 HS-SPME-GC-MS 测定 顶空固相微萃取：参考 GUO 等[22] 和赵甜甜等[4] 方法并做适当调整，准确称取 0.500 g 香椿茶样品于 20 mL 顶空瓶中，立即加入 5 mL 沸水和 5 μL 内标（124 μg/mL 2-甲基-3-庚酮），密封后于 60 ℃ 水浴中平衡 10 min，插入经 250 ℃ 老化过的 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头，萃取 40 min 后取出，插入 GC-MS 于 250 ℃ 解析 5 min。

GC 条件：HP-5MS 石英毛细管柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm）；程序升温：初温 40 ℃，保持 3 min，以 3 ℃/min 的速率升温至 80 ℃，保持 2 min，以 5 ℃/min 升至 150 ℃，保持 2 min，以 8 ℃/min 升至 240 ℃，保持 3 min 后结束；载气高纯氦气；无分流比，流速 1 mL/min。

MS 条件：电子电离源，四极杆温度 150 ℃；离子源温度 230 ℃；传输线温度 250℃；质量扫描范围 40~500 u。

定性和定量：利用 GC-MS 联用仪内置的 NIST 17.LIB 标准质谱库进行检索匹配，利用 C_5~C_{30} 正构烷烃计算样品中挥发性成分的保留指数，并与参考 NIST 网站中相关化合物的保留指数进行比对分析。记录相似度大于 80% 的挥发性物质，利用内标 2-甲基-3-庚酮计算各成分的相对含量，按照式（3）计算：

$$C = \frac{A_x \times C_0 \times V}{A_0 \times m} \quad \text{式（3）}$$

式中：C 是未知化合物的相对含量，μg/g；A_x是未知化合物的峰面积，mAu·s；A_0是内标物峰面积 mAu·s；C_0是内标物的质量浓度，μg/μL；V 是内标物的体积，μL；m 是样品质量，g。

1.2.5.2 OAV 计算 香气活度值（odor activity value，OAV）是挥发性物质的浓度和该物质的阈值之比，用于评价单个挥发性物质对样品整体香气的贡献度[23]。按式（4）计算：

$$OAV_X = \frac{C_x}{OT_x} \quad \text{式（4）}$$

式中：OAV_x 为某个挥发性化合物 x 的香气活度值；C_x 为挥发性化合物相对含量；OT_x 为挥发性化合物阈值。

1.3 数据处理

所有实验均平行测定 3 次，结果表示为（平均数±标准差）；采用 DPS 软件中单因素方差分析（ANOVA）及 Duncan 多重比较检验进行显著性分析，显著性水平设为 P<0.05；使用 Origin 8.6 绘图。

2 结果与分析

2.1 不同外源酶对香椿发酵茶感官品质的影响

不同外源酶处理的香椿发酵茶感官审评结果如表 2 所示。添加酶处理的三组样品感官评价总分显著高于空白对照组（P<0.05），感官评价总分依次为 CE 组>PPO 组>FLA 组>CK 组，但 CE 组和 PPO 组无显著性差异。CE 组样品条索紧结、乌润显毫，茶汤红明亮，香椿味富含甜香，滋味醇厚鲜爽，叶底嫩尚匀、明亮，感官审评总分最高（90.3 分）。FLA 组样品在香气评价中得分最高，可能是因为在酶处理三组样品中，FLA 组呈现甜香的酯类化合物含量最高，同时赋予青草气味的醛类物质含量最低。二者共同作用，显著提高了样品甜香、烘烤等愉悦风味，并有效降低了香椿原料的典型生青味。PPO 组样品感官审评总分为 90.2 分，其汤色红明亮，叶底明亮，这可能是因为多酚氧化酶可以使茶叶中多酚类物质经氧化缩合形成茶红素和茶黄素[19]。综上所述，添加外源酶可显著提升香椿发酵茶感官品质。

2.2 不同外源酶对香椿发酵茶主要活性成分影响

水浸出物是茶汤中所有水溶性物质的总和，其构成与配比是决定茶叶品质的关键因素[12]；游离氨基酸、可溶性糖和咖啡碱是茶汤滋味的重要物质组成，赋予了茶汤鲜味、甜味和苦味；茶多酚和总黄酮是茶叶中具有保健功能的主要成分；茶色素主要包含茶黄

表 2 不同外源酶处理香椿发酵茶感官审评分析

Table 2 Sensory evaluation analysis of *Toona sinensis* fermented tea with different exogenous enzymes

类别		CK组	CE组	FLA组	PPO组
外形	评语	条索紧结，有锋苗，色泽尚乌润	条索紧结，有锋苗，乌润显毫	条索紧结，有锋苗，色泽尚乌润	条索紧结，有锋苗，乌润显毫
	评分	88.5±0.1^b	89.6±0.1^a	88.8±0.2^b	89.1±0.1^a
汤色	评语	红亮	红明亮	橙红亮	红明亮
	评分	90.5±0.3^c	91.3±0.1^a	89.3±0.2^d	90.9±0.2^b
香气	评语	香椿味和甜味尚融合，浓郁	香椿味和甜味融合，浓郁	香椿味和甜味融合，浓郁持久	香椿味和甜味融合，浓郁
	评分	89.3±0.2^c	90.2±0.1^b	91.1±0.2^a	90.5±0.1^b
滋味	评语	尚醇厚，尚鲜爽	醇厚鲜爽	醇厚，尚鲜爽	醇厚鲜爽
	评分	89.5±0.2^d	91.2±0.2^a	90.5±0.1^c	90.9±0.2^b
叶底	评语	嫩尚匀，尚明亮	嫩尚匀，明亮	嫩尚匀，尚明亮	嫩尚匀，明亮
	评分	85.1±0.3^d	88.1±0.2^b	86.6±0.1^c	88.9±0.1^a
总分		89.0±0.2^c	90.3±0.3^a	89.7±0.2^b	90.2±0.1^a

注：CK组为空白对照组，CE组为添加纤维素酶组；FLA组为添加风味蛋白酶；PPO组为添加多酚氧化酶。不同处理之间进行差异显著性比较，同行相同字母表示差异不显著（P>0.05）；不同小写字母表示数据差异显著（P<0.05）。

表 3　不同外源酶对香椿发酵茶主要活性成分的影响

Table 3　Effect of different exogenous enzymes on main active components of *Toona sinensis* fermented tea

样品	含量(g/100 g)								
	水浸出物	游离氨基酸	可溶性糖	咖啡碱	茶多酚	总黄酮	茶黄素	茶红素	茶褐素
CK组	40.22±0.12^{c}	11.58±0.11^{d}	4.65±0.03^{d}	3.83±0.05^{a}	4.92±0.03^{c}	4.11±0.03^{c}	0.56±0.01^{b}	9.94±0.10^{b}	9.99±0.06^{c}
CE组	42.32±0.06^{a}	13.02±0.15^{a}	4.75±0.02^{c}	2.63±0.05^{b}	5.32±0.06^{a}	4.49±0.04^{a}	0.63±0.01^{a}	10.91±0.09^{a}	14.76±0.03^{b}
FLA组	40.66±0.29^{b}	12.35±0.09^{b}	4.96±0.02^{b}	3.84±0.03^{a}	5.23±0.02^{b}	4.46±0.03^{a}	0.56±0.00^{b}	8.72±0.05^{c}	14.72±0.10^{b}
PPO组	42.63±0.18^{a}	11.86±0.09^{c}	5.27±0.02^{a}	2.48±0.02^{c}	4.94±0.03^{c}	4.27±0.04^{b}	0.61±0.00^{a}	10.01±0.13^{b}	15.15±0.03^{a}

注: 同列不同小写英文字母表示数据差异显著, P<0.05。

素、茶红素、茶褐素, 其含量与茶汤品质密切相关, 是构成茶汤“亮、红、褐”的主要成分, 尤其是茶黄素和茶红素共同构成了红茶的“灵魂”[6,12]。由表 3 可知, 添加外源酶可显著提高香椿发酵茶中水浸出物、游离氨基酸、可溶性糖、总黄酮和茶褐素含量(P<0.05)。CE 组茶样游离氨基酸(13.02 g/100 g)、茶多酚(5.32 g/100 g)、总黄酮(4.49 g/100 g)、茶黄素(0.63 g/100 g)和茶红素(10.91 g/100 g)含量均最高, 与 CK 组相比分别提高了 12.44%、8.13%、9.25%、12.50%、9.76%, 这可能是因为外源纤维素酶破坏了香椿嫩芽的细胞壁结构, 提高了茶叶组织的通透性, 促进了氨基酸、总黄酮等活性成分的释放以及茶多酚转化, 提高了茶黄素和茶红素的含量[12]; 但其咖啡碱含量显著低于 CK 组(P<0.05), 可能是因为与纤维素酶辅助发酵有关, 使茶叶中咖啡碱氧化聚合生成新的物质导致其含量下降[12]。FLA 组香椿发酵茶中咖啡碱含量显著高于 CE 组和 PPO 组, 除咖啡碱和总黄酮外其余指标均显著低于 CE 组或 PPO 组(P<0.05)。PPO 组茶样中水浸出物(42.63 g/100 g)、可溶性糖含量(5.27 g/100 g)和茶褐素(15.15 g/100 g)含量最高, 与CK 组相比分别提高了 5.99%、13.33%、51.65%, 但咖啡碱和总黄酮含量均较低, 可能是因为茶叶中的儿茶素等多酚类物质在多酚氧化酶的作用下发生聚合、分解氧化等反应, 生成了茶黄素和茶褐素, 导致茶叶中茶多酚含量降低[9,12]。上述研究结果与叶飞等[24] 和林剑锋等[25] 研究结果一致, 添加外源酶可以显著提高香椿发酵茶的活性成分, 且不同外源酶对香椿发酵茶活性成分影响具有显著性差异, 可能与外源酶种类及添加量有关。

2.3　不同外源酶对香椿发酵茶抗氧化活性影响

红茶中富含茶多酚、黄酮、茶色素等多种活性成分, 具有较强的抗氧化能力, 可以有效清除体内自由基。由于抗氧化作用机理比较复杂, 所以评价样品抗氧化能力强弱不能只用一种方法进行评价[26]。不同外源酶对香椿发酵茶清除 DPPH·和·OH 能力与总还原能力影响见图 1, DPPH·清除能力的 IC_{50} 值大小依次为 PPO 组<CE 组<FLA 组<CK 组, 表明添加外源酶处理的茶叶样品清除 DPPH·的能力强于空白对照组, 但三种酶清除效果无显著性差异(P>0.05)。·OH 清除能力的 IC_{50} 值依次为 CE 组<PPO 组<CK 组<FLA 组, 且 CK 组(15.007 mg/mL)分别是 CE 组(11.52 mg/mL)和 PPO 组(12.01 mg/mL)的 1.30 倍和 1.25 倍, 结果表明纤维素酶处理的香椿发酵茶清除·OH 能力最强。随着茶汤浓度从 0.5 mg/mL 增至 4.0 mg/mL, 香椿发酵茶样品的总还原能力呈线性增加, 其中各处理组的总还原能力整体表现为 CK 组< CE 组<PPO 组和 FLA 组; 在 0.5~3.0 mg/mL 浓度范围内, PPO 组与 FLA 组的总还原能力无显著性差异(P>0.05)。由此可知, CE 组和 PPO 组清除 DPPH·和·OH 能力较强, 而 FLA 组和 PPO 组总还原能力较强, 可能源于不同酶处理香椿发酵茶中活性成分组成及含量的差异, 也与不同抗氧化评价方法的内在机理有关。前期研究表明, 茶叶中活性物质种类较多, 在各种物质的相互作用和影响下, 从而造成不同抗氧化活性评价指标出现差异[27], 与本研究结果一致。

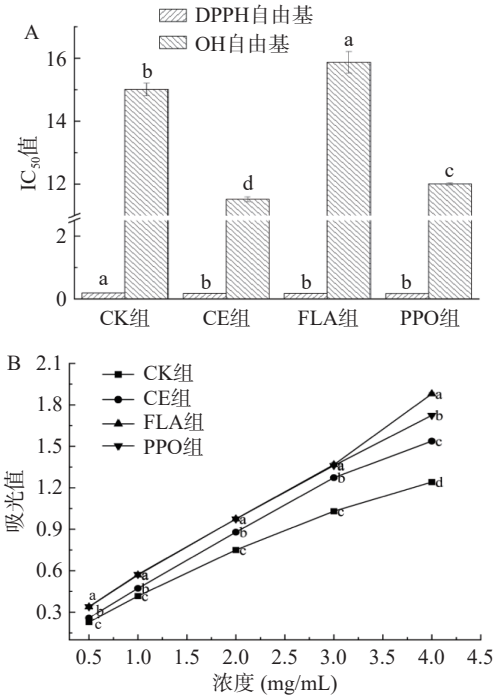


图 1　不同外源酶处理香椿发酵茶中抗氧化活性影响

Fig.1　Effect of antioxidant activity in *Toona sinensis* fermented tea with different exogenous enzymes

注: A: DPPH·和·OH 清除能力的 IC_{50} 值; B: 总还原力; 不同小写字母表示组内存在差异显著(P<0.05)。

2.4　不同外源酶香椿发酵茶中指标相关性分析

不同外源酶香椿发酵茶中指标相关性分析如表 4 所示, 咖啡碱含量与其他指标均呈负相关, 尤其

表 4 不同外源酶处理香椿发酵茶中各指标相关性分析

Table 4 Correlation analysis of various indexes in *Toona sinensis* fermented tea with different exogenous enzymes

指标	感官评价	水浸出物	茶多酚	游离氨基酸	咖啡碱	总黄酮	可溶性糖	茶黄素	茶红素	茶褐素	DPPH·清除能力	·OH清除能力	总还原力
感官评价	1												
水浸出物	0.890	1											
茶多酚	0.590	0.167	1										
游离氨基酸	0.765	0.423	0.953*	1									
咖啡碱	−0.834	−0.988*	−0.089	−0.368	1								
总黄酮	0.750	0.371	0.938	0.915	−0.262	1							
可溶性糖	0.423	0.576	−0.237	−0.164	−0.492	0.113	1						
茶黄素	0.883	0.932	0.328	0.595	−0.951*	0.417	0.243	1					
茶红素	0.448	0.587	0.081	0.346	−0.692	−0.015	−0.259	0.800	1				
茶褐素	0.881	0.727	0.538	0.610	−0.611	0.791	0.679	0.581	−0.019	1			
DPPH·清除能力	0.871	0.828	0.339	0.459	−0.730	0.629	0.797	0.643	0.059	0.971*	1		
·OH清除能力	0.785	0.931	0.123	0.415	−0.972*	0.219	0.278	0.977*	0.840	0.467	−0.575	1	
总还原力	0.514	0.317	0.403	0.328	−0.165	0.669	0.718	0.080	−0.532	0.856	0.795	−0.035	1

注: *表示在0.05水平(双侧)上显著相关。

与水浸出物含量、茶黄素含量、·OH 清除能力呈显著负相关(P<0.05)。除咖啡碱含量外,感官评价和水浸出物含量与其他指标均呈正相关。DPPH·清除能力与茶褐素呈显著正相关(P<0.05),·OH 清除能力与茶黄素呈显著正相关(P<0.05),而 DPPH·清除能力和·OH 清除能力呈负相关。总还原力主要与茶褐素、可溶性糖、总黄酮等活性成分及 DPPH·清除能力呈正相关,但与·OH 清除能力呈负相关。相关性分析结果表明,香椿发酵茶中抗氧化成分及作用机制较为复杂,其抗氧化能力并非总黄酮、茶色素或茶多酚等某一类活性物质的单独贡献,而是源于上述活性成分与维生素、有机酸等物质之间的相互作用,共同发挥抗氧化效应[6−7]。因此,DPPH·清除能力、·OH 清除能力、总还原能力等不同抗氧化活性评价指标与各类活性成分之间的相关性呈现显著差异。

2.5 不同外源酶处理香椿发酵茶 HS-SPME-GC-MS 分析

2.5.1 挥发性风味物质分析 香气是决定香椿发酵茶品质的重要因素之一,由多种挥发性风味物质按照不同比例构成[23]。为研究不同外源酶处理香椿发酵茶挥发性风味物质变化规律及香气特征,利用 HS-SPME-GC-MS 对四个样品的挥发性风味物质种类及含量进行分析鉴定,结果见表 5 和图 2。四种香椿发酵茶样品共鉴定出 74 种挥发性风味物质,主要包括含硫类 7 种、醇类 5 种、酯类 5 种、醛类 11 种、烃类 38 种和其他类 8 种。CK 组样品鉴定出 59 种挥发性风味物质,相对含量为 18.295 μg/g,以含硫类(13.89%)、烃类(54.88%)和其他类(10.91%)等物质为主。CE 组样品鉴定出 55 种挥发性风味物质,相对含量为 19.181 μg/g,以含硫类(20.41%)、醛类(16.25%)、烃类(48.48%)和其他类(10.15%)等物质为主。FLA 组样品鉴定出 56 种挥发性风味物质,相对含量为 19.050 μg/g,以含硫类(17.70%)、酯类(11.84%)、醛类(12.03%)、烃类(41.47%)和其他类(15.09%)等物质为主。PPO 组样品鉴定出 61 种挥发性风味物质,相对含量为 22.163 μg/g,以醛类

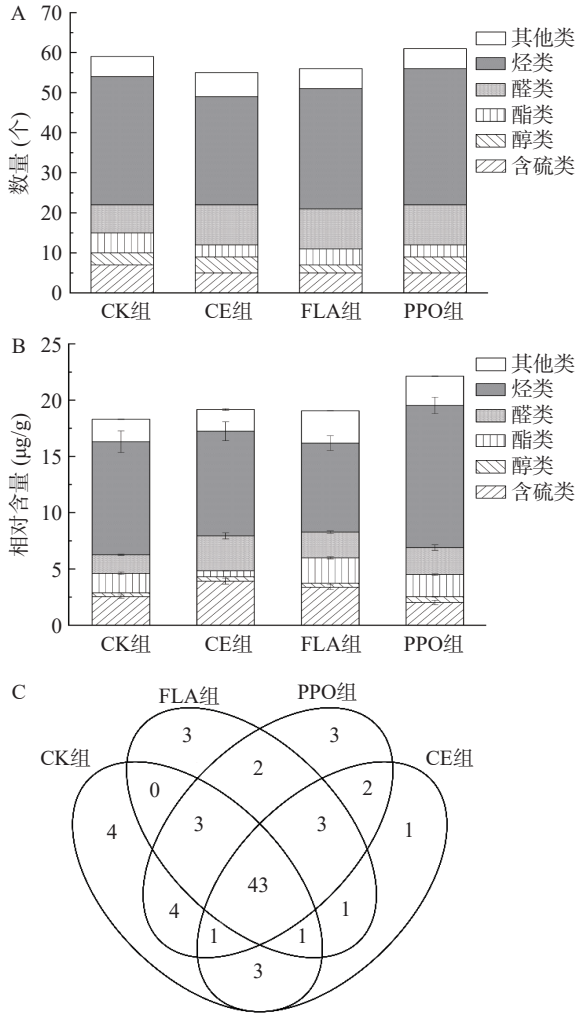


图 2 GC-MS 检测不同外源酶处理香椿发酵茶的挥发性风味物质

Fig.2 Volatile flavor compounds of *Toona sinensis* fermented tea with different exogenous enzymes detected by GC-MS

注: A 种类数量堆积图; B 相对含量堆积图; C 韦恩图。

表 5　不同外源酶处理香椿发酵茶挥发性风味物质

Table 5　Volatile flavor compounds in *Toona sinensis* fermented tea with different exogenous enzymes

名称	化学式	CAS	相对含量(μg/g)				保留指数RI#/RI*
			CK组	CE组	FLA组	PPO组	
含硫类			2.541±0.147^{b}	3.912±0.265^{a}	3.372±0.203^{a}	2.014±0.199^{c}	
二甲基硫醚	C_2H_6S	75-18-3	0.833±0.074^{a}	0.842±0.034^{a}	0.814±0.087^{a}	0.699±0.038^{b}	521/521
2,3-二氢-5-甲基噻吩	C_5H_8S	4610-02-0	0.068±0.005	–	–	–	789/–
3,4-二甲基噻吩	C_6H_8S	632-15-5	0.831±0.057^{a}	0.241±0.048^{b}	0.447±0.074^{b}	0.333±0.062^{b}	873/881
1-乙硫基-2-甲基-1-丙烯	$C_6H_{12}S$	27482-14-0	0.622±0.081^{c}	2.615±0.159^{a}	1.866±0.055^{b}	0.739±0.098^{c}	952/–
2-噻吩甲醛	C_5H_4OS	98-03-3	0.048±0.003^{b}	0.158±0.046^{a}	0.177±0.002^{a}	0.174±0.037^{a}	1000/1008
(E,E)-二-1-丙烯基二硫醚	$C_6H_{10}S_2$	23838-23-5	0.085±0.006	–	–	–	1116/1129
(-)-薄荷硫醚	$C_{15}H_{24}S$	72445-42-2	0.054±0.006^{a}	0.056±0.001^{a}	0.068±0.011^{a}	0.069±0.007^{a}	1747/1743
醇类			0.331±0.023^{c}	0.403±0.015^{ab}	0.356±0.012^{bc}	0.515±0.033^{a}	
苯甲醇	C_7H_8O	100-51-6	–	–	–	0.085±0.005	1032/1033
T-杜松醇	$C_{15}H_{26}O$	5937-11-1	–	0.057±0.004^{b}	–	0.069±0.008^{a}	1648/1648
T-依兰油醇	$C_{15}H_{26}O$	19912-62-0	0.105±0.005^{a}	0.114±0.005^{a}	0.112±0.011^{a}	0.127±0.016^{a}	1662/1660
法呢醇	$C_{15}H_{26}O$	4602-84-0	0.186±0.013^{b}	0.194±0.007^{b}	0.244±0.007^{a}	0.234±0.009^{a}	1725/1721
植醇	$C_{20}H_{40}O$	150-86-7	0.040±0.001^{a}	0.038±0.001^{a}	–	–	2115/2115
酯类			1.736±0.114^{b}	0.515±0.018^{c}	2.255±0.102^{a}	1.974±0.081^{b}	
乙酸丁酯	$C_6H_{12}O_2$	123-86-4	0.054±0.008	–	–	–	816/812
(E,E)-金合欢醇乙酸酯	$C_{17}H_{28}O_2$	4128-17-0	1.073±0.132^{b}	–	1.590±0.072^{a}	1.509±0.054^{a}	1844/1844
棕榈酸甲酯	$C_{17}H_{34}O_2$	112-39-0	0.473±0.020^{a}	0.416±0.013^{b}	0.501±0.006^{a}	0.392±0.017^{b}	1924/1924
亚油酸甲酯	$C_{19}H_{34}O_2$	112-63-0	0.072±0.009^{a}	0.049±0.007^{b}	0.088±0.004^{a}	–	2097/2098
亚麻酸甲酯	$C_{19}H_{32}O_2$	301-00-8	0.064±0.007^{a}	0.050±0.006^{a}	0.076±0.003^{a}	0.073±0.003^{a}	2104/2105
醛类			1.650±0.058^{c}	3.115±0.265^{a}	2.292±0.108^{b}	2.391±0.246^{b}	
3-甲基丁醛	$C_5H_{10}O$	590-86-3	0.193±0.009^{a}	0.192±0.017^{a}	0.204±0.025^{a}	0.168±0.017^{b}	650/649
2-甲基丁醛	$C_5H_{10}O$	96-17-3	–	0.183±0.003^{a}	–	0.086±0.008^{b}	657/656
(E)-2-戊烯醛	C_5H_8O	1576-87-0	–	0.102±0.013^{b}	0.162±0.007^{a}	0.058±0.007^{c}	750/754
(E)-2-己烯醛	$C_6H_{10}O$	6728-26-3	0.223±0.020^{b}	0.296±0.023^{a}	0.292±0.019^{a}	0.283±0.012^{a}	848/850
苯乙醛	C_8H_8O	122-78-1	0.744±0.057^{b}	1.636±0.104^{a}	0.855±0.018^{b}	0.998±0.015^{b}	1039/1039
对甲基苯甲醛	C_8H_8O	104-87-0	0.137±0.005^{b}	0.289±0.019^{a}	0.233±0.037^{ab}	0.339±0.059^{a}	1063/1072
壬醛	$C_9H_{18}O$	124-19-6	0.221±0.012^{a}	0.146±0.017^{b}	0.212±0.036^{a}	0.177±0.015^{ab}	1105/1105
藏红花醛	$C_{10}H_{14}O$	116-26-7	0.038±0.008^{b}	0.047±0.002^{a}	0.049±0.006^{a}	0.051±0.004^{a}	1206/1206
癸醛	$C_{10}H_{20}O$	112-31-2	–	–	0.043±0.006	–	1220/1220
α-亚乙基-苯乙醛	$C_{10}H_{10}O$	4411-89-6	0.094±0.005^{b}	0.172±0.011^{a}	0.184±0.016^{a}	0.179±0.004^{a}	1274/1274
2,3-二氢-1H-吲哚-4-甲醛	$C_{10}H_{10}O$	51932-70-8	–	0.052±0.006^{a}	0.058±0.003^{a}	0.052±0.004^{a}	1321/–
烃类			10.041±0.963^{ab}	9.291±0.843^{b}	7.900±0.661^{c}	12.634±0.728^{a}	
1-甲基-3-(1-甲基乙基)环己烯	$C_{10}H_{18}$	13828-31-4	0.099±0.007^{b}	0.111±0.013^{b}	0.181±0.015^{a}	0.148±0.006^{ab}	1192/–
8-甲基-十七烷	$C_{18}H_{38}$	13287-23-5	–	–	–	0.089±0.004	1281/–
十三烷	$C_{13}H_{28}$	629-50-5	–	–	0.061±0.002	–	1299/1300
δ-榄香烯	$C_{15}H_{24}$	20307-84-0	0.130±0.037^{ab}	0.124±0.016^{b}	0.139±0.007^{ab}	0.204±0.004^{a}	1339/1339
α-荜澄茄油烯	$C_{15}H_{24}$	17699-14-8	0.104±0.002^{a}	0.098±0.009^{a}	0.114±0.003^{a}	0.140±0.003^{a}	1351/1351
α-古巴烯	$C_{15}H_{24}$	3856-25-5	0.118±0.017^{a}	0.070±0.007^{b}	0.084±0.004^{b}	0.136±0.018^{a}	1377/1377
β-榄香烯	$C_{15}H_{24}$	515-13-9	0.584±0.026^{ab}	0.445±0.024^{b}	0.436±0.019^{b}	0.776±0.021^{a}	1394/1394
(-)-异丁香烯	$C_{15}H_{24}$	118-65-0	0.140±0.016^{a}	0.070±0.001^{b}	0.084±0.009^{b}	0.098±0.007^{ab}	1409/1408
β-石竹烯	$C_{15}H_{24}$	87-44-5	1.285±0.086^{ab}	1.552±0.050^{a}	0.796±0.013^{b}	1.521±0.082^{a}	1421/1421
β-古巴烯	$C_{15}H_{24}$	18252-44-3	0.071±0.002^{b}	–	–	0.089±0.002^{a}	1431/1430
γ-榄香烯	$C_{15}H_{24}$	29873-99-2	0.066±0.001^{b}	0.076±0.003^{ab}	0.056±0.009^{b}	0.104±0.007^{a}	1435/1435
α-愈创木烯	$C_{15}H_{24}$	3691-12-1	0.102±0.011	–	–	–	1440/1440
(+)-香橙烯	$C_{15}H_{24}$	489-39-4	–	0.080±0.003^{b}	0.078±0.007^{b}	0.150±0.007^{a}	1441/1440
6,9-愈创木二烯	$C_{15}H_{24}$	36577-33-0	0.096±0.008^{a}	0.065±0.007^{a}	0.067±0.006^{a}	0.120±0.017^{a}	1445/1450
顺式-摩勒-3,5二烯	$C_{15}H_{24}$	1000365-95-4	0.061±0.009^{ab}	0.047±0.001^{b}	0.061±0.004^{ab}	0.088±0.002^{a}	1448/–
α-榄香烯	$C_{15}H_{24}$	5951-67-7	0.057±0.007^{a}	–	–	0.067±0.008^{a}	1451/1469
α-石竹烯	$C_{15}H_{24}$	6753-98-6	0.558±0.016^{a}	–	–	0.525±0.011^{a}	1456/1456
(E)-β-法呢烯	$C_{15}H_{24}$	18794-84-8	–	0.405±0.005^{b}	0.475±0.005^{a}	–	1457/1457
柔拿烯	$C_{15}H_{24}$	41929-05-9	–	–	0.071±0.006^{b}	0.109±0.008^{a}	1463/–

续表 5

名称	化学式	CAS	相对含量(μg/g)				保留指数RI#/RI*
			CK组	CE组	FLA组	PPO组	
顺式-摩勒-4(14),5二烯	$C_{15}H_{24}$	157477-72-0	0.079±0.001^{b}	–	0.069±0.004^{b}	0.108±0.009^{a}	1465/1467
γ-依兰油烯	$C_{15}H_{24}$	30021-74-0	0.449±0.024^{ab}	0.303±0.003^{b}	0.271±0.015^{b}	0.569±0.019^{a}	1478/1477
大根香叶烯D	$C_{15}H_{24}$	23986-74-5	1.314±0.036^{bc}	1.506±0.011^{ab}	0.840±0.007^{c}	1.922±0.052^{a}	1483/1483
α-芹子烯	$C_{15}H_{24}$	473-13-2	0.758±0.017^{ab}	0.522±0.018^{b}	0.491±0.018^{b}	1.016±0.029^{a}	1498/1498
α-法呢烯	$C_{15}H_{24}$	502-61-4	1.233±0.026^{b}	1.523±0.023^{a}	1.432±0.004^{a}	1.507±0.021^{a}	1509/1509
γ-杜松烯	$C_{15}H_{24}$	39029-41-9	0.316±0.013^{ab}	0.239±0.016^{b}	0.289±0.003^{ab}	0.414±0.013^{a}	1517/1517
蛇床-3,7(11)-二烯	$C_{15}H_{24}$	6813-21-4	0.061±0.009^{b}	–	0.089±0.002^{a}	0.082±0.003^{a}	1522/1532
去氢白菖烯	$C_{15}H_{22}$	483-77-2	0.847±0.013^{ab}	0.917±0.017^{ab}	0.636±0.014^{b}	1.024±0.118^{a}	1527/1529
荜澄茄油烯	$C_{15}H_{24}$	29837-12-5	0.068±0.001^{b}	–	–	0.081±0.001^{a}	1537/1537
α-杜松烯	$C_{15}H_{24}$	24406-05-1	0.218±0.002^{ab}	0.180±0.008^{b}	0.165±0.016^{b}	0.301±0.016^{a}	1541/1544
α-二去氢菖蒲烯	$C_{15}H_{20}$	21391-99-1	0.407±0.017^{ab}	0.277±0.007^{b}	0.325±0.011^{ab}	0.420±0.012^{a}	1549/1550
大根香叶烯B	$C_{15}H_{24}$	15423-57-1	0.208±0.019^{a}	0.152±0.009^{b}	0.173±0.002^{b}	0.250±0.016^{a}	1564/1564
β-二去氢菖蒲烯	$C_{15}H_{20}$	50277-34-4	0.093±0.001^{a}	0.075±0.002^{a}	0.085±0.004^{a}	0.106±0.002^{a}	1569/1563
十六烷	$C_{16}H_{34}$	544-76-3	0.079±0.002^{b}	0.131±0.009^{a}	–	–	1599/1600
α-二去氢荜澄茄烯	$C_{15}H_{20}$	20129-39-9	–	–	0.083±0.003^{b}	0.105±0.005^{a}	1629/1630
1,6-二甲基-4-异丙基萘	$C_{15}H_{18}$	483-78-3	0.069±0.008^{a}	0.045±0.005^{b}	0.050±0.001^{b}	0.065±0.004^{a}	1681/1683
愈创兰油烃	$C_{15}H_{18}$	489-84-9	0.099±0.006^{a}	0.084±0.009^{a}	0.095±0.005^{a}	0.091±0.006^{a}	1784/1790
新植二烯	$C_{20}H_{38}$	504-96-1	0.068±0.003^{b}	0.066±0.007^{b}	0.104±0.006^{a}	0.074±0.006^{b}	1841/1840
9,10-脱氢异长叶烯	$C_{15}H_{22}$	1000151-67-1	0.204±0.005^{a}	0.128±0.009^{b}	–	0.135±0.007^{b}	1927/–
其他类			1.996±0.029^{b}	1.945±0.075^{b}	2.875±0.021^{a}	2.635±0.029^{a}	
2-甲基呋喃	$C_{5}H_{6}O$	534-22-5	0.507±0.001^{c}	0.597±0.011^{c}	1.388±0.012^{a}	0.852±0.013^{b}	600/599
2-乙酰基吡咯	$C_{6}H_{7}NO$	1072-83-9	–	0.053±0.005	–	–	1060/1060
反-茴香脑	$C_{10}H_{12}O$	4180-23-8	0.057±0.007^{a}	0.046±0.007^{b}	–	–	1284/1285
1,2,3,4-四氢-2-甲基喹啉	$C_{10}H_{13}N$	1780-19-4	0.121±0.002^{ab}	0.113±0.002^{ab}	0.166±0.016^{a}	0.098±0.002^{b}	1295/–
丁香酚	$C_{10}H_{12}O_{2}$	97-53-0	0.397±0.012^{b}	0.583±0.004^{ab}	0.631±0.025^{a}	0.674±0.009^{a}	1357/1358
香叶基丙酮	$C_{13}H_{22}O$	3796-70-1	–	–	0.087±0.005	–	1454/1455
(E)-β-紫罗兰酮	$C_{13}H_{20}O$	79-77-6	0.914±0.037^{a}	0.553±0.046^{b}	0.603±0.014^{ab}	0.907±0.019^{a}	1487/1487
2,4-二叔丁基苯酚	$C_{14}H_{22}O$	96-76-4	–	–	–	0.104±0.008	1511/1513

注: “–”表示未检出或无数值; 同行不同字母表示差异显著(P<0.05); #表示物质计算的RI值, *表示物质参考NIST官方网站中的RI值。

(10.80%)、烃类(57.09%)和其他类(11.91%)等物质为主。与 CK 组香椿发酵茶相比, CE 组中含硫类和醛类相对含量显著增加, FLA 组中含硫类、醛类和酯类相对含量显著增加, PPO 组中醇类和醛类显著增加、含硫类化合物显著下降(P<0.05)。CE 组和 FLA 组中含硫类物质增加, 可能是因为香椿中含硫类化合物为酶促反应产物[28], 纤维素酶和风味蛋白酶加速了含硫风味化合物酶促反应生成速率。CE 组、FLA 组和 PPO 组中醛类物质显著增加(P<0.05), 推测醛类香气物质的增加可能是在外源酶的作用下, 醇类物质氧化生成了醛类。Supriyadi 等[29] 研究结果表明在红茶加工过程中添加 β-葡萄糖苷酶, 可显著加速酶促氧化反应, 使大部分苯甲醇转化为苯甲醛, 与本研究结果一致。

韦恩图能够很好地展现不同样品挥发性风味物质的相关性, 由图 2C 可知, CK 组、CE 组、FLA 组、PPO 组香椿发酵茶中共鉴定出 43 种共有挥发性风味物质, 上述共有组分总相对含量占各组挥发性风味物质总量的比例分别为 85.09%、93.10%、84.49%、84.19%, 其中 CE 组占比显著高于其他三组(P<0.05), CK 组、FLA 组和 PPO 组组间无明显差异。CK 组、CE 组、FLA 组、PPO 组分别鉴定出 4 种、1 种、3 种、3 种各自独有挥发性风味物质, 其总相对含量占比分别为 1.69%、0.28%、1.00%、1.25%。与 CK 组相比, 添加外源酶的 CE 组、FLA 组和 PPO 组香椿发酵茶中还检测到了 2 种醇类(苯甲醇、T-杜松醇)、4 种醛类(2-甲基丁醛、(E)-2-戊烯醛、癸醛、2,3-二氢-1H-吲哚-4-甲醛)、6 种烃类(8-甲基-十七烷、十三烷、(+)-香橙烯、(E)-β-法呢烯、柔拿烯、α-二去氢荜澄茄烯)和 3 种其他类(2-乙酰基吡咯、香叶基丙酮、2,4-二叔丁基苯酚), 赋予了香椿发酵茶坚果香、青草香、花香和果香的风味特征和丰富浓郁的香味层次[30]。

综上, HS-SPME-GC-MS 检测结果表明, 与 CK 组相比, CE 组、FLA 组、PPO 组香椿发酵茶中检测到更多的醛类、醇类、酯类, 上述物质是经外源酶处理后形成的挥发性风味物质, 赋予了样品青香、果香及花香等风味特征[9,30]。其中 PPO 组香椿发酵茶检测到的挥发性风味物质种类和相对含量均最高, 醇类和醛类挥发性风味物质的增加以及含硫类化合物的下降, 使香椿发酵茶整体风味更加丰富协调。

2.5.2 OAV 分析及关键挥发性风味物质 挥发性风

味物质贡献大小不仅取决于其含量，还与挥发性风味物质的气味阈值有关。OAV 综合了含量和阈值两个维度，用以客观评价挥发性风味物质对整体风味的贡献程度[23]。例如，某些挥发性风味物质虽然含量较高，但由于其气味阈值较大，OAV 较低，因此对样品的整体风味影响较小；而部分挥发性风味物质虽然含量较低，但因其气味阈值极其小，OAV 较高，从而对整体风味产生显著贡献。本研究采用 OAV 法用于鉴定香椿发酵茶中关键挥发性风味物质，当 OAV≥1 时，该挥发性成分对样品风味有贡献，且 OAV 越高，则其贡献越大[23,30]。

为了获得关于不同挥发性风味物质对香椿发酵茶样品整体风味的贡献信息，查阅到了 28 种挥发性风味物质的气味阈值，香椿发酵茶挥发性风味物质 OAV 如表 6 所示。CK 组、CE 组、FLA 组和 PPO 组中 OAV≥1 的挥发性风味物质分别有 11 种、10 种、12 种、12 种，其中二甲基硫醚、3-甲基丁醛、(E)-2-己烯醛、苯乙醛、对甲基苯甲醛、壬醛、*β*-石竹烯、丁香酚、(E)-*β*-紫罗兰酮 9 种 OAV≥1 的挥发性风味物质在四组样品中均有检出。(E,E)-二-1-丙烯基二硫醚作为香椿风味的主要贡献者[28]，是 CK 组中 OAV 最高的挥发性风味物质；(E)-*β*-紫罗兰酮(紫罗兰花香)是 CE 组、FLA 组和 PPO 组中 OAV 最高的挥发性风味物质。添加外源酶的三组样品中还检测到法呢醇(铃兰和玫瑰花香)、2-甲基丁醛(咖啡坚果味和脂肪香)、癸醛(脂肪香和柑橘香)、香叶基丙酮(花香和果香)4 种 OAV≥1 的挥发性风味物质。由此可知，添加外源酶可以显著改善香椿发酵茶的风味特征，使其风味更加丰富、浓郁。

2.5.3　OPLS-DA 分析　正交偏最小二乘分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA)是一种有监督的判别分析统计学方法，通过对复杂数据进行降维处理，建立判别模型，实现复杂数据的可视化、判别分析和预测分析[31]。为了分析不同外源酶处理香椿发酵茶挥发性风味物质之间的差异，量化关键性化合物对香椿发酵茶风味的贡献，将挥发性风味物质含量作为 Y 变量进行 OPLS-DA 建模。拟合模型自变量拟合指数(R_x^2)、因变量拟合指数

表 6　不同外源酶处理香椿发酵茶挥发性风味物质 OAV 及风味描述

Table 6　OAV and flavor description of volatile flavor compounds in *Toona sinensis* fermented tea with different exogenous enzymes

序号	化合物名称	风味阈值(μg/kg)	OAV				风味描述
			CK组	CE组	FLA组	PPO组	
1	二甲基硫醚	0.3	2776.67	2806.67	2713.33	2330.00	洋葱、甜玉米、蔬菜味
2	3,4-二甲基噻吩	5000	0.17	0.05	0.09	0.07	烤洋葱味
3	2-噻吩甲醛	5000	0.01	0.03	0.04	0.03	甜香，烤面包香
4	(E,E)-二-1-丙烯基二硫醚	0.0034	25000.00				硫磺味、煮洋葱、熟大蒜
5	苯甲醇	620				0.14	茉莉、栀子花香
6	法呢醇	200	0.93	0.97	1.22	1.17	铃兰和玫瑰花香、甜香
7	植醇	640	0.06	0.06			草药、花香
8	乙酸丁酯	66	0.82				果香
9	棕榈酸甲酯	2000	0.24	0.21	0.25	0.20	轻微脂肪香
10	3-甲基丁醛	1.2	160.83	160.00	170.00	140.00	巧克力味、脂肪香
11	2-甲基丁醛	3		61.00		28.67	咖啡坚果味、脂肪香
12	(E)-2-戊烯醛	310		0.33	0.52	0.19	青草香
13	(E)-2-己烯醛	17	13.12	17.41	17.18	16.65	青草香
14	苯乙醛	4	186.00	409.00	213.75	249.50	风信子、玫瑰花香
15	对甲基苯甲醛	1.2	114.17	240.83	194.17	282.50	樱桃、苦杏仁味
16	壬醛	1	221.00	146.00	212.00	177.00	柠檬香、草本植物清香
17	癸醛	0.1			430.00		脂肪香、柑橘香
18	*β*-石竹烯	150	8.57	10.35	5.31	10.14	胡椒香、木香
19	*β*-古巴烯	140	0.51			0.64	木香、泥土香
20	(+)-香橙烯	340		0.24	0.23	0.44	柑橘香、木香
21	*α*-石竹烯	160	3.49			3.28	木香
22	2-甲基呋喃	3500	0.14	0.17	0.40	0.24	咖啡香、烤坚果香
23	2-乙酰基吡咯	170000		0.0003			坚果香、烤面包香
24	反-茴香脑	73	0.78	0.63			甜香、甘草香、茴香
25	丁香酚	2.5	158.80	233.20	252.40	269.60	丁香、木香
26	香叶基丙酮	60			1.45		玫瑰花香、果香
27	(E)-*β*-紫罗兰酮	0.07	13057.14	7900.00	8614.29	12957.14	紫罗兰花香
28	2,4-二叔丁基苯酚	500				0.21	酚类刺激性气味

注：阈值数据主要来源于《化合物嗅觉阈值汇编》。风味描述主要来源于网站http: //www.flavornet.org/flavornet.html。

(R_y^2)与模型预测指数(Q^2)分别为 0.909、0.993、0.915 均接近于 1，表明模型拟合合理。如图 3A 所示，不同外源酶处理香椿发酵茶在 OPLS-DA 得分图上区分较好，四个样品分别位于不同象限，组内差异较小，组间分布分散。对建立的模型进行 200 次置换检验，如图 3B 所示，Q^2 与 y 轴的交点位于负半轴，表明该模型不存在过拟合，模型验证有效[32]，可以用于解释不同外源酶处理香椿发酵茶挥发性风味物质的差异物质。

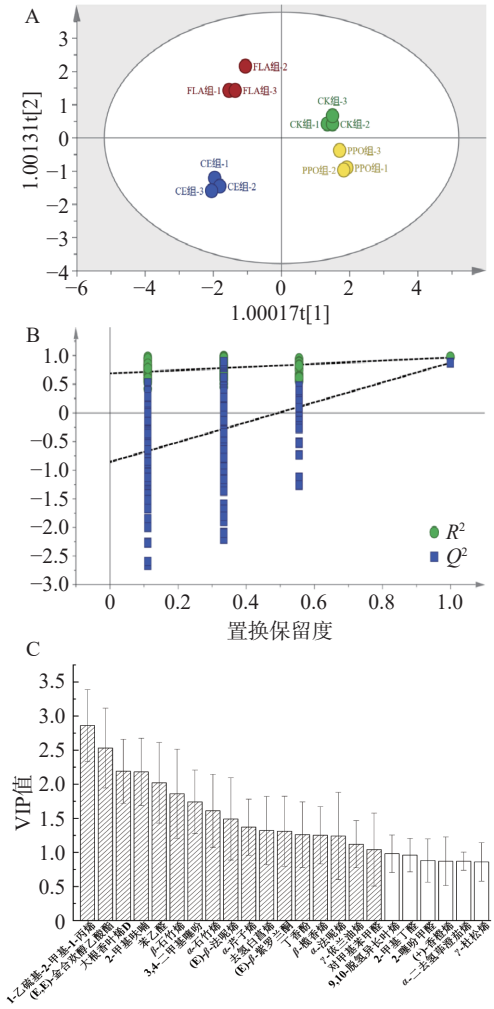


图 3 不同外源酶处理香椿发酵茶的 OPLS-DA 分析

Fig.3 OPLS-DA analysis of volatile components in *Toona sinensis* fermented tea with different exogenous enzymes

注：A: OPLS-DA 得分图；B: 200 次置换检验结果；C: VIP 值(斜线部分表示 VIP≥1 的关键差异化合物)。

变量投影重要度(variable importance in projection, VIP)可用于确定每种挥发性风味物质对香椿发酵茶的贡献程度[33]，如图 3C 所示。本研究共筛选出 17 种 VIP 值≥1 的物质，包含 2 种含硫化合物(1-乙硫基-2-甲基-1-丙烯、3,4-二甲基噻吩)、1 种酯类((E,E)-金合欢醇乙酸酯)、2 种醛类(苯乙醛、对甲基苯甲醛)、9 种烃类(大根香叶烯 D、β-石竹烯、α-石竹烯、(E)-β-法呢烯、α-芹子烯、去氢白菖烯、β-榄香烯、α-法呢烯、γ-依兰油烯)、3 种其他类(2-甲基呋喃、(E)-β-紫罗兰酮、丁香酚)。其中 1-乙硫基-2-甲基-1-丙烯、(E,E)-金合欢醇乙酸酯、大根香叶烯 D、2-甲基呋喃、苯乙醛是 VIP>2 的五种物质，表明其对不同外源酶香椿发酵茶的风味差异影响较大。

2.5.4 关键差异特征化合物分析 通过对 OAV≥1 的 15 种与 VIP≥1 的 17 种挥发性风味物质进行综合分析，发现 OAV≥1 且 VIP≥1 的挥发性风味物质共有 6 种，分别是苯乙醛、对甲基苯甲醛、β-石竹烯、α-石竹烯、丁香酚、(E)-β-紫罗兰酮，这些物质是主导香椿发酵茶风味的关键差异化合物。OAV 越高，对香椿发酵茶的贡献越大，其中苯乙醛(风信子和玫瑰花香)、对甲基苯甲醛(樱桃和苦杏仁味)、丁香酚(丁香和木香)和(E)-β-紫罗兰酮(紫罗兰花香)在四个样品中均有检出，且 OAV 均大于 100。但上述化合物在样品间的 OAV 差异显著，直接导致了四种香椿发酵茶的整体品质与风味表现区别明显。OAV≥1 但 VIP<1 的风味物质有 9 种，主要为含硫类和醛类，它们也对香椿发酵茶的风味贡献较大。VIP≥1 的风味物质中有 9 种为烃类化合物，但由于其阈值较高的特性，对香椿发酵茶整体风味贡献较小。

3 结论

本研究系统分析了在发酵过程添加外源酶对香椿发酵茶品质的影响，结果表明在香椿发酵茶的发酵环节添加外源酶可显著改善香椿发酵茶的品质，且不同外源酶对香椿发酵茶品质具有显著影响。与 CK 组相比，CE 组游离氨基酸、茶多酚、总黄酮、茶黄素和茶红素含量分别提高了 12.44%、8.13%、9.25%、12.50%、9.76%，具有较强的清除 DPPH·和·OH 能力；FLA 组大部分活性成分均低于其余两组，但总还原能力最强；PPO 组水浸出物、可溶性糖和茶褐素含量最高，具有较强的清除 DPPH·和·OH 能力。四种香椿发酵茶样品共鉴定出 5 类 74 种挥发性化合物，其中共有成分 43 种，其相对含量总和占各组挥发性风味物质总量的 84% 以上。与 CK 组相比，CE 组、FLA 组、PPO 组香椿发酵茶中检测到更多的醛类、醇类、酯类等挥发性风味物质，其中添加多酚氧化酶的香椿发酵茶挥发性风味物质种类和相对含量均最高。通过 OAV 和 OPLS-DA 确定了苯乙醛、对甲基苯甲醛、β-石竹烯、α-石竹烯、丁香酚、(E)-β-紫罗兰酮是主导香椿发酵茶风味的关键差异挥发性风味物质。综上所述，PPO 组香椿发酵茶整体品质最优。本研究仅研究了 3 种外源酶对香椿发酵茶品质的影响规律，后续应深入开展物质变化机制及物质之间相互作用的研究，以期为香椿发酵茶的品质调控及新产品开发提供理论依据和技术支撑。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

［1］ PENG W, LIU Y J, HU M B, et al. *Toona sinensis*: A comprehensive review on its traditional usages, phytochemisty, pharmacology and toxicology[J]. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2019, 29(1): 111−124.

［2］ ZHAI X T & GRANVOGL M. Key odor-active compounds in raw green and red *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem. and their changes during blanching[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(27): 7169−7183.

［3］ YU W J, CHANG C C, KUO T F, et al. *Toona sinensis* Roem leaf extracts improve antioxidant activity in the liver of rats under oxidative stress[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(6): 1860−1865.

［4］ 赵甜甜, 张国治, 王赵改, 等. 两种市售香椿茶主要活性成分、抗氧化活性及挥发性成分的对比分析[J]. 轻工学报, 2023, 38(3): 35−45. ［ZHAO T T, ZHANG G Z, WANG Z G, et al. Comparative analysis of main active components, antioxidant activity and volatile compounds of two commercial *Toona sinensis* tea[J]. Journal of Light Industry, 2023, 38(3): 35−45.］

［5］ 李湘利, 刘静, 赵俊杰, 等. 红香椿绿茶复合保健饮料的加工工艺研究[J]. 食品科技, 2011, 36(5): 112−116. ［LI X L, LIU J, ZHAO J J, et al. Processing technology of healthy compound beverage of red *Toona sinensis* Roem and green tea[J]. Food Science and Technology, 2011, 36(5): 112−116.］

［6］ 蒋鹏飞, 赵甜甜, 史冠莹, 等. 不同饮用水对香椿发酵茶茶汤品质和抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(15): 91−99. ［JIANG P F, ZHAO T T, SHI G Y, et al. Impact of different brewing water on the quality and antioxidant activity of *Toona sinensis* fermented tea infusions[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(15): 91−99.］

［7］ 蒋鹏飞, 高海东, 赵丽丽, 等. 不同采收期香椿茶发酵前后活性成分、降糖活性及其挥发性成分比较分析[J]. 食品科学, 2021, 42(2): 262−270. ［JIANG P F, GAO H D, ZHAO L L, et al. Comparative analysis of bioactive ingredients, hypoglycemic activity and volatile components of unfermented and fermented tea made from *Toona sinensis* Buds at different harvest periods[J]. Food Science, 2021, 42(2): 262−270.］

［8］ AAMINLARI M. Plants- and animal- derived enzymes and their potential application in food processing and preservation[M]. Novel Food Grade Enzymes: Applications in Food Processing and Preservation Industries, 2022, 17−63.

［9］ 杨丽娟, 王伟伟, 许勇泉, 等. 外源酶在红茶加工中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(7): 344−351. ［YANG L J, WANG W W, XU Y Q, et al. Progress of exogenous enzymes application in black tea processing[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(7): 344−351.］

［10］ 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.

［11］ LIU Y, CHEN Q C, LIU D C, et al. Multi-omics and enzyme activity analysis of flavour substances formation: Major metabolic pathways alteration during Congou black tea processing[J]. Food Chemistry, 2023, 403: 134263.

［12］ 缪凤, 王俊懿, 朱海燕. 外源纤维素酶对江华苦茶红茶品质的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(17): 38−46. ［MIAO F, WANG J Y, ZHU H Y. Effects of exogenous cellulase on the quality of black tea of Jianghua-Kucha[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(17): 38−46.］

［13］ CHIANG S H, YANG K M, WANG S Y, et al. Enzymatic treatment in black tea manufacturing processing: Impact on bioactive compounds, quality, and bioactivities of black tea[J]. LWT, 2022, 163: 0023−6438.

［14］ 罗晶晶, 王登良, 魏青. 外源酶对英红九号红茶品质的影响研究[J]. 广东农业科学, 2015, 42(4): 9−13. ［LUO J J, WANG D L, WEI Q. Effects of exogenous enzymes on quality of Yinghong No.9 black tea[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2015, 42(4): 9−13.］

［15］ 刘盼盼, 郑鹏程, 龚自明, 等. 工夫红茶品质分析与综合评价[J]. 食品科学, 2021, 42(12): 195−205. ［LIU P P, ZHENG P C, GONG Z M, et al. Quality analysis and comprehensive evaluation of Chinese Congoublack tea[J]. Food Science, 2021, 42(12): 195−205.］

［16］ ZHANG G Y, YANG J H, CUI D D, et al. Transcriptome and metabolic profiling unveiled roles of peroxidases in theaflavin production in black tea processing and determination of tea processing suitability[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(11): 3528−3538.

［17］ 胡静, 段波, 何至伟, 等. 川红工夫红茶加工工序对主要滋味物质及其品质形成的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(4): 291−298. ［HU J, DUAN B, HE Z W, et al. Influence of process on the formation of main taste substances and quality of Chuanhong congou black tea[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(4): 291−298.］

［18］ 钟兴刚, 黄怀生, 黎娜, 等. 不同萎凋和发酵处理对‘汝城白毛茶’加工红茶品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(4): 137−144. ［ZHONG X G, HUANG H S, LI N, et al. Effect of withering and fermentation technology on the quality of ‘Rucheng Baimaocha’processed black tea[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(4): 137−144.］

［19］ 仝佳音, 杨毅坚, 杨方慧, 等. 添加多酚氧化酶和纤维素酶对大叶种红茶品质的影响[J]. 陕西农业科学, 2020, 66(5): 50−53. ［TONG J Y, YANG Y J, YANG F H, et al. Effect of adding polyphenol oxidase and cellulase on the quality of large leaf black tea[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2020, 66(5): 50−53.］

［20］ 刘丽辰, 黄秀红, 阮怿航, 等. 响应面优化亚临界水提取茶色素工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(14): 71−79. ［LIU L C, HUANG X H, RUAN Y H, et al. Study on response surface optimization for extraction of tea pigment from subcritical water[J]. Food Research and Development, 2021, 42(14): 71−79.］

［21］ WANG X, XIE K L, ZHUANG H N, et al. Volatile flavor compounds, total polyphenolic contents and antioxidant activities of a China gingko wine[J]. Food Chemistry, 2015, 182(1): 41−46.

［22］ GUO W F, OGAWA K, YAMAUCHI K, et al. Isolation and characterization of a β-primeverosidase concerned with alcoholic aroma formation in tea leaves[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2014, 60(11): 1810−1814.

［23］ 刘亚芹, 王辉, 朱林, 等. 茶树品种对祁门红茶挥发性代谢谱及关键呈香物质的影响[J]. 食品科学, 2025, 46(8): 211−220. ［LIU Y Q, WANG H, ZHU L, et al. Effect of tea cultivars on the volatile metabolite profile and key odorants of Keemun black tea[J]. Food Science, 2025, 46(8): 211−220.］

［24］ 叶飞, 高士伟, 龚自明. 砂梨多酚氧化酶处理对夏秋红茶品质的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 92−95. ［YE F, GAO S W, GONG Z M. Effects of *Pyrus pyrifolia* Nakai polyphenol oxidase treatment on the quality of black tea in summer and autumn[J].

Food Science, 2013, 34(23): 92−95.]
[25] 林剑峰, 白建阳, 吴理文, 等. 外源酶对夏秋红茶主要品质成分影响研究[J]. 中国茶叶加工, 2020(3): 51−57. [LIN J F, BAI J Y, WU L W, et al. Effects of exogenous enzymes on main quality components of black tea in summer and autumn[J]. China Tea Processing, 2020(3): 51−57.]
[26] 孟娟, 刘洪存, 陆淑雯, 等. 广西不同产地绿茶中主要抗氧化物质含量及其抗氧化活性分析[J]. 现代食品科技, 2025, 12(41): 1−11. [MENG J, LIU H C, LU S W, et al. Analysis of the contents and activities of main antioxidant substances in the green teas from different production regions in Guangxi[J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(12): 180−190.]
[27] 钟旭为, 尹茹琪, 江名. 三种广西不同地区绿茶中总黄酮的提取及其抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2024, 43(5): 180−184. [ZHONG X W, YIN R Q, JIANG M. Extraction and antioxidant activities of total flavonoids in green tea from three different regions in Guangxi[J]. China Brewing, 2024, 43(5): 180−184.]
[28] LI J X, EIDMAN K, GAN X W, et al. Identification of (S, S)-c-glutamyl-(cis-S-1-propenyl) thioglycine, a naturally occurring norcysteine derivative, from the Chinese vegetable *Toona sinensis*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(31): 7470−7476.
[29] SUPRIYADI S, NARESWARI A R, FITRINAI A, et al. Enhancement of black tea aroma by adding the *β*-glucosidase enzyme during fermentation on black tea processing[J]. International Journal of Food Science, 2021, 2021: 5542109.
[30] 杨霁虹, 周汉琛, 刘亚芹, 等. 基于 HS-SPME-GC-MS 和 OAV 分析黄山地区不同茶树品种红茶香气的差异[J]. 食品科学, 2022, 43(16): 235−241. [YANG J H, ZHOU H C, LIU Y Q, et al. Differences in aroma components of black tea processed from different tea cultivars in Huangshan by using headspace-solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and odor activity value[J]. Food Science, 2022, 43(16): 235−241.]
[31] KANG C D, ZHANG Y Y, ZHANG M Y, et al. Screening of specific quantitative peptides of beef by LC-MS/MS coupled with OPLS-DA[J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132932.
[32] 王艳燕, 刘志薇, 严慧婷, 等. 变温发酵工艺滇红工夫挥发性成分及关键香气成分分析[J]. 食品科学, 2024, 45(23): 159−167. [WANG Y Y, LIU Z W, YAN H T, et al. Analysis of volatile components and key aroma components in Dianhong Congou black tea produced by variable temperature fermentation[J]. Food Science, 2024, 45(23): 159−167.]
[33] 陈家齐, 李佳霖, 赵吉春, 等. 基于 HS-SPME-GC-MS 和 HS-GC-IMS 联用分析不同干燥方式对红托竹荪挥发性物质的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(12): 284−295. [CHEN J Q, LI J L, ZHAO J C, et al. Effects of different drying methods on the volatile substances of *Dictyophora rubrovolvata* based on HS-SPME-GC-MS and HS-GC-IMS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(12): 284−295.]