

樊玉花,瞿素萍,王珍珍,等. 香味茶花远缘杂交亲本云南核果茶(*Pyrenaria yunnanensis* Hu)香气成分分析[J]. 江苏农业科学,2020,48(2):192-196.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.02.035

香味茶花远缘杂交亲本云南核果茶 (*Pyrenaria yunnanensis* Hu) 香气成分分析

樊玉花¹,瞿素萍²,王珍珍¹,李树发²,蔡艳飞²

(1. 云南大学农学院,云南昆明 650205; 2. 云南省农业科学院花卉研究所/国家观赏园艺工程技术研究中心/云南省花卉育种重点实验室,云南昆明 650205)

摘要:芳香味是评价名优茶花品种的重要园艺性状,培育具有芳香味的茶花品种是茶花育种的重要研究方向。采用顶空固相微萃取(HS-SPME)结合气相色谱-质谱(GC/MS)联用仪测定技术对香味茶花远缘杂交亲本云南核果茶(*Pyrenaria yunnanensis* Hu)香气成分进行分析,共鉴定出 32 种香气化合物,可分为醇类、萜烯类、酯类、烷烃类、酮类和芳香烃类 6 类。其中,醇类化合物含量最高,占香气总成分的 68.19%,香气主体成分为芳樟醇、1,8-桉叶素、苯乙醇、癸酸乙酯、十二甲基环六硅氧烷、桉烯、氧化芳樟醇、1-己醇 8 种化合物。研究结果明确了云南核果茶的花香成分,为芳香茶花品种的选育提供理论依据,同时为茶花花香成分代谢途径关键酶基因的克隆和后续的分育种奠定基础。

关键词:香味茶花;云南核果茶;花香成分;气相色谱-质谱联用仪

中图分类号:S685.140.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)02-0192-05

山茶(*Camellia* L.)花色艳丽、花容娇美、密叶苍绿、经冬不凋,不仅是世界著名的观赏花卉,也是

我国传统十大名花之一。具有怡人的芳香味是名优茶花品种的重要园艺性状^[1],然而,在已经登录在册的 2 万余个茶花品种中,具有芳香气味的茶花品种只有 21 个,如烈香(High Fragrance)、玛丽安(Mariann)、克瑞墨大牡丹(Kramer's supreme)等,绝大多数茶花品种都没有芳香气味^[2]。培育花色丰富且具有芳香气味的茶花品种已成为茶花育种的重要趋势。然而,山茶属植物中仅有少数几个种或品种具有明显的芳香气味,对这些资源的重视度和开发研究均较少。充分发掘带香味的近缘野生资

收稿日期:2018-12-04

基金项目:国家自然科学基金(编号:31760229);云南主要花卉品种选育与高效繁育技术研发项目(编号:2018BB010);云南省技术创新人才培养配套项目(编号:2014-HB057)。

作者简介:樊玉花(1993—),女,云南玉溪人,硕士研究生,主要从事木本观赏植物的遗传育种研究。E-mail:1113441589@qq.com。

通信作者:蔡艳飞,博士,副研究员,主要从事高山杜鹃和茶花的栽培及遗传育种研究。E-mail:caiyangfei1013@126.com。

[3] 励建荣,李婷婷,李学鹏. 水产品鲜度品质评价方法研究进展[J]. 北京工商大学学报(自然科学版),2010,28(6):1-8.

[4] Delbarre - Ladrat C, Verrez - Bagnis V, Noël J, et al. Relative contribution of calpain and cathepsins to protein degradation in muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. Food Chemistry, 2004,88(3):389-395.

[5] Ahmed Z, Donkor O, Street W A, et al. Calpains - and cathepsins - induced myofibrillar changes in post - mortem fish: impact on structural softening and release of bioactive peptides [J]. Trends in Food Science and Technology, 2015,45(1):130-146.

[6] Gaarder M O, Bahuaud D, Veiseth - Kent E, et al. Relevance of calpain and calpastatin activity for texture in super - chilled and ice - stored Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets [J]. Food Chemistry, 2012,132(1):9-17.

[7] Nie X, Lin S, Zhang Q. Proteolytic characterisation in grass carp

sausage inoculated with *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* [J]. Food Chemistry, 2014,145:840-844.

[8] 张娅楠,赵利,袁美兰,等. 水产品加工中蛋白酶的应用进展[J]. 食品安全质量检测学报,2014,5(11):3705-3710.

[9] Jiang S T. Effect of proteinases on the meat texture and seafood quality [J]. Food Science and Agricultural Chemistry, 2000,2(2):55-74.

[10] Shahidi F, Kamil Y V A J. Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry [J]. Trends in Food Science and Technology, 2001,12:435-464.

[11] 李树红,张楠,刘欢,等. 鲢鱼背肌肌原纤维蛋白自溶与内源组织蛋白酶 B、L、H 的关系 [J]. 中国农业大学学报,2004,9(5):71-75.

[12] 钟婵,沈建东,蔡秋凤,等. 蓝圆鲋肌肉组织蛋白酶 B 的纯化与性质分析 [J]. 食品工业科技,2012,33(10):108-112.

源,开展远缘杂交,则有可能培育出具有芳香味的茶花育种中间材料或茶花新品种。

云南核果茶(*Pyrenaria yunnanensis* Hu)属于山茶科(Theaceae)核果茶属(*Prenaria* Bl.)常绿灌木或乔木,分布于海拔 1 600 ~ 2 400 m 的山坡阔叶林,其花呈白色,单生于上部叶腋,具有浓郁的芳香味,且花期在 5 月^[3]。前期笔者所在课题组以具有芳香味的云南核果茶为母本,无香味的云南山茶品种狮子头(Lion Head)、早桃红(Early Crimson)、靖安茶(Jingan Camellia)、帕克斯博士(Dr. Clifford Parks)为父本进行远缘杂交,成功获得了一定数量的远缘杂交后代植株。通过表型观测,杂交后代植株也具有芳香气味,但其母本云南核果茶的香气组成成分并不清楚。

目前,对许多带有芳香气味的植物花的挥发性成分进行了分析,如香水月季复合群(*Rosa odorata* complex)^[4]、桂花(*Osmanthus fragrans* L.)^[5-6]、小苍兰(*Fressia hybrida*)^[7]、杜鹃(*Rhododendron* L.)^[8]

等都有过研究,对山茶属茶树(*C. sinensis* L.)的茶叶香味成分做过分析^[9-11],对普洱大叶种乔木茶(*C. sinensis* var. *assamica*)花的香气成分也进行了分析^[12],但对于山茶花的花香成分分析仅报道了芳香茶花品种克瑞墨大牡丹。

本研究以云南核果茶盛花期花瓣为试料,利用顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用仪测定技术对其香气成分进行分析,不仅可以了解云南核果茶的花香成分,为芳香茶花品种的选育提供理论指导,同时为进一步了解茶花花香成分代谢途径关键酶基因和后续的子育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为云南核果茶(图 1),树龄 8 年,树高经修剪后为 2 ~ 3 m,以苗木形式保存于云南省农业科学院花卉研究所茶花种质资源圃。于 12:00 采摘云南核果茶花朵样品,开放程度为盛花。



A. 云南核果茶的花朵

B. 云南核果茶的茎

C. 云南核果茶的果实

图1 云南核果茶

1.2 试验方法

1.2.1 顶空固相微萃取 顶空固相微萃取参照林榕燕等的方法^[7,13],首先对固相微萃取头(headspace solid phase micro extraction, SPME; 100 μ m PDMS 纤维, Supelco, USA)进行预处理,将 100 μ m PDMS/DVB 萃取纤维在气相色谱进样口 250 $^{\circ}$ C 条件下老化 60 min。然后称取 1 g 茶花花瓣,塞入收集瓶中,将收集瓶放入 40 $^{\circ}$ C 水浴中,插入 SPME 萃取头,萃取 40 min。

1.2.2 GC/MS 检测 萃取完成后,用 Trace DSQ - GC - MS 气相/质谱联用仪(Thermo Corporation, USA)进行 GC - MS 分析,GC/MS 检测参照李晋华等的方法^[4,10],气相色谱条件如下:色谱柱采用 DB - 5MS 熔融石英毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times

0.25 mm);进样口温度为 250 $^{\circ}$ C,运载气体为 99.99% 氦气,1 mL/min 的流速进行不分流进样;程序升温:保持 5 min 的 50 $^{\circ}$ C 初始柱温,以 3 $^{\circ}$ C/min 的速度升至 210 $^{\circ}$ C,平衡 3 min,然后再以 15 $^{\circ}$ C/min 的速度升至 230 $^{\circ}$ C,最后在 230 $^{\circ}$ C 保持 8 min。

质谱条件:EI 为离子源,电子能量 70 eV,离子源温度为 230 $^{\circ}$ C,四级杆温度为 150 $^{\circ}$ C,接口温度为 280 $^{\circ}$ C,电子倍增器电压为 350 V, m/z 为 35 ~ 400 进行质量扫描,2.8 min 溶剂延迟。

1.3 数据分析

花瓣萃取后经 GC/MS 分析,并将 GC/MS 分析得到的数据在 NIST 08. L 标准谱库上进行检索,对照拟合指数,结合标样进行定性分析。运用峰面积归一化法进行定量分析,得到各组分的相对含量。

2 结果与分析

2.1 花香成分分析

云南核果茶花香成分的 GC/MS 总离子流色谱图如图 2 所示,每个峰表示 1 种化合物。从盛花期的花瓣中共检测出了 32 种化合物,检出的主要芳香成分及相对含量见表 1。从图 2 和表 1 可以看出,云南核果茶的香气成分比较复杂,相对含量差异较

大,最高的有 28.93%,最低的只有 0.16%。出峰时间按分子量由大到小的顺序排列,分子量小的先出峰,环状的出峰比链状晚,有双键的出峰比无双键的晚,直链的出峰比支链晚。在检测出的化合物中有多组化合物是同分异构体,如分子量为 170 的有 2 个,均为醇类化合物;分子量为 136 的有 7 个,均为萜烯类化合物。

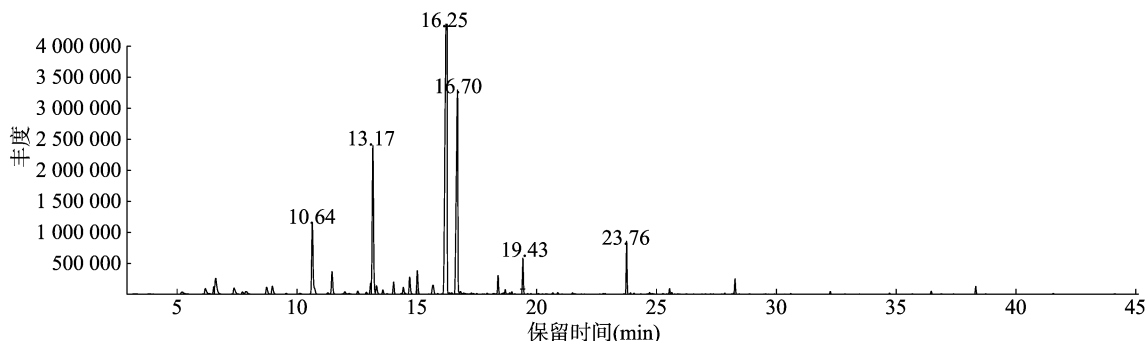


图2 云南核果茶挥发性成分的总离子流色谱

在检测出的 32 种化合物中,醇类化合物最多,有 12 种;萜烯类化合物次之,有 9 种;酯类、烷烃类、酮类化合物的数量基本一致,酯类化合物有 3 种,烷烃类化合物有 4 种,酮类化合物有 3 种;芳香烃类化合物最少,仅有 1 种。

2.2 花香化合物组分含量及分类

云南核果茶花瓣中检测到的 32 种化合物可以分为醇类化合物(68.19%)、酯类化合物(9.69%),烷烃类化合物(7.66%)、酮类化合物(2.87%)、萜烯类化合物(10.53%)和芳香烃类化合物(0.63%)共 6 类(图 3)。结合表 1 和图 3 可以看出,花香化合物组分多的相对含量较高,组分少的相对含量较低,如醇类化合物的组分最多,为 12 种,其相对含量为 68.19%,远远高于其他化合物总和,在香气成分中占主导地位;萜烯类化合物为 9 种,其相对含量为 10.53%;芳香烃类化合物仅有 1 种,其相对含量仅为 0.63%。

2.3 云南核果茶香气的主体成分

如表 1 和图 3 所示,云南核果茶香气成分中含量最高的为醇类化合物。在检出的醇类化合物中,主要为芳樟醇(28.93%)、1,8-桉叶素(13.21%)、苯乙醇(11.20%)、氧化芳樟醇(4.63%)、1-己醇(4.55%)5 种。在其他化合物中,相对含量较高的还有癸酸乙酯(6.31%)、十二甲基环六硅氧烷(5.41%)和桉烯(5.09%),其相对含量均在 4.00%

以上(表 2)。上述 8 种化合物相对含量占香气成分的 79.33%,其余 24 种化合物占总香气成分的 20.67%。因此,云南核果茶的香气主体成分为表 2 中所列出的 8 种化合物,其中,又以芳樟醇含量最高,其相对含量为 28.93%,明显高于排在第 2 位的 1,8-桉叶素(相对含量为 13.21%)。因此,在云南核果茶的香气成分中,芳樟醇起主导作用。

3 讨论与结论

芳香气味是评价名优茶花品种的重要园艺性状,但在茶花品种中带有芳香气味的品种极少,培育带有芳香气味的茶花品种已成为茶花育种的重要目标之一。前期研究发现,云南核果茶具有浓郁的芳香味,并且在前期的育种工作中也发现以其为亲本的远缘杂交后代植株也带有芳香味,对其进行花香成分分析,将为芳香味茶花品种的培育奠定基础。

本研究通过顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用仪测定技术,首次分析了云南核果茶盛花期花瓣的花香成分,得到 32 种香气化合物。其中,醇类化合物的相对含量居首位,醇类化合物中又以芳樟醇的含量最高,相对含量达 28.93%,其他的香气主体成分还有 1,8-桉叶素、苯乙醇、癸酸乙酯、十二甲基环六硅氧烷、桉烯、氧化芳樟醇、1-己醇等,这些挥发性物质一起构成了云南核果茶浓郁独

表 1 云南核果茶的主要花香成分及其相对含量

编号	保留时间 (min)	化合物	分子式	分子量	匹配度 (%)	相对含量 (%)
醇类						
1	6.18	顺-3-己烯-1-醇	C ₆ H ₁₂ O	100.00	97	0.73
2	6.53	顺-2-己烯-1-醇	C ₆ H ₁₂ O	100.00	91	0.76
3	6.61	1-己醇	C ₆ H ₁₄ O	102.00	64	4.55
4	7.73	2-庚醇	C ₇ H ₁₆ O	116.00	83	0.53
5	13.32	苯甲醇	C ₇ H ₈ O	108.00	98	0.67
6	15.02	氧化芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170.00	91	4.63
7	15.67	反式-芳樟醇氧化物	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170.00	97	1.43
8	16.25	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	91	28.93
9	16.70	苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O	122.17	95	11.20
10	18.97	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.28	94	0.16
11	19.43	甲位松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	91	1.39
12	13.17	1,8-桉叶素	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	98	13.21
酯类						
13	25.55	癸酸乙酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.32	98	6.31
14	38.32	邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	276.33	97	2.29
15	36.47	邻苯二甲酸二异丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	90	1.09
烷烃类						
16	5.21	六甲基环三硅氧烷	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃	222.46	90	0.63
17	12.00	八甲基环四硅氧烷	C ₈ H ₂₄ O ₄ Si ₄	296.62	90	0.34
18	18.39	十甲基环五硅氧烷	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅	370.77	94	1.28
19	23.76	十二甲基环六硅氧烷	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	444.92	93	5.41
酮类						
20	7.38	2-庚酮	C ₇ H ₁₄ O	114.00	94	1.80
21	11.27	3-辛酮	C ₈ H ₁₆ O	128.00	87	0.20
22	14.70	苯乙酮	C ₈ H ₈ O	120.15	95	0.87
萜烯类						
23	8.74	2-甲基-5-(1-甲基乙基)-双环[3.1.0]-2-己烯	C ₁₀ H ₁₆	136.00	97	0.45
24	8.97	2-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136.00	97	0.88
25	10.64	桉烯	C ₁₀ H ₁₆	136.00	97	5.09
26	11.47	月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	136.00	96	1.39
27	12.53	松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136.00	98	0.27
28	13.59	1,3,6-辛三烯	C ₁₀ H ₁₈	138.00	97	0.83
29	13.07	(+)-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	136.00	93	0.74
30	14.44	GAMMA-萜品烯,松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136.00	97	0.48
31	16.82	(3E)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯	C ₁₁ H ₁₈	134.00	90	0.40
芳香烃类						
32	12.90	邻异丙基甲苯	C ₁₀ H ₁₄	134.22	97	0.63

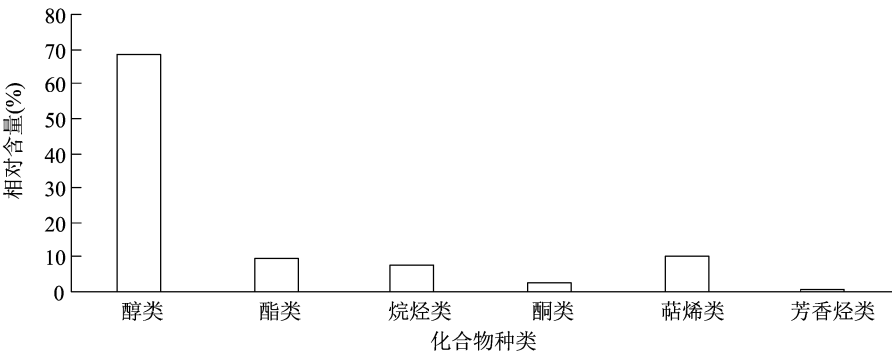


图3 云南核果茶花香成分及相对含量分类统计

表 2 云南核果茶的香气主体成分

化合物名称	相对含量 (%)
芳樟醇	28.93
1,8-桉叶素	13.21
苯乙醇	11.20
癸酸乙酯	6.31
十二甲基环六硅氧烷	5.41
桉烯	5.09
氧化芳樟醇	4.63
1-己醇	4.55
合计	79.33

特的芳香气味。

本研究的结果和其他芳香型植物存在一定异同处。香水月季复合群的主体香气成分为苯乙醇、2-苯乙醇和香叶醇、橙花醇等单萜醇类^[4],苯乙醇是香水月季复合群的主要芳香成分,具有清甜的玫瑰样花香^[14];桂花中的花香则主要源自萜烯类物质^[5];在杜鹃花中,1,8-桉油酸、丁香酚、 β -蒎烯的相对含量较高^[8];小苍兰中香味的主要成分是醇类跟烯炔类化合物,并且以芳樟醇的贡献率最大^[7]。云南核果茶中香味成分主要为醇类,且主体成分为芳樟醇,这与范正琪等对芳香味的茶花品种克瑞墨大牡丹的主体花香成分分析结果^[1]一致,说明云南核果茶与克瑞墨大牡丹的香型类似。此外,在对普洱大叶种乔木茶花香气成分的分析中也发现芳樟醇为主要成分^[12]。芳樟醇具有铃兰类的鲜爽型花香,芳樟醇氧化物则具有百合花或玉兰花香型^[15],1,8-桉叶素具有樟脑气息和清凉的草药味,苯乙醇具有清甜的玫瑰样花香;在云南核果茶中检测出的香气成分中,相对含量较少的松油醇具有紫丁香香型,2-庚酮有类似梨的水果香味^[14],这些香型共同组成了云南核果茶独特的香味和香型。

云南核果茶香味浓郁独特,其挥发性成分可以用于开发香料、精油、化妆品、生活用品。此外,云南核果茶已与其他茶花成功进行了远缘杂交,获得了杂交后代植株,这为培育芳香型茶花品种提供了重要的育种亲本和中间材料。

独特浓郁的芳香味、纯白色的花朵、5 月开花等特性赋予了云南核果茶作为香味茶花远缘杂交亲本的重要育种价值。以云南核果茶为茶花远缘杂交的育种亲本,有望培育花期不同且带有芳香味的

名优茶花品种。本研究对云南核果茶的花香成分进行分析,共鉴定出 32 种香气化合物,以醇类化合物的相对含量最高,其中,又以芳樟醇的含量最高。研究结果明确了云南核果茶的花香主体成分,不仅为进一步开展茶花花香育种奠定基础,还可以为进一步了解茶花花香成分代谢途径关键酶基因和后续分子育种奠定基础。

参考文献:

[1] 范正琪,李纪元,田 敏,等. 山茶品种“克瑞墨大牡丹”香气成分分析[J]. 林业科学研究,2005,18(4):412-415.

[2] 高继银. 芳香茶花品种介绍[J]. 花木盆景(花卉园艺),2001(3):62-63.

[3] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志:第八卷[M]. 北京:科学出版社,1997.

[4] 李晋华,晏慧君,杨锦红,等. 香水月季复合群(*Rosa odorata* Complex)花香成分分析[J]. 西南农业学报,2018,31(3):587-591.

[5] 邹晶晶,蔡 璇,曾祥玲,等. 桂花不同品种开花过程中香气活性物质的变化[J]. 园艺学报,2017,44(8):1517-1534.

[6] 施婷婷,杨秀莲,王良桂. ‘波叶金桂’花香成分的释放规律[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2018,42(2):97-104.

[7] 林榕燕,钟淮钦,黄敏玲,等. 小苍兰品种花香成分分析[J]. 福建农业学报,2016,31(11):1216-1220.

[8] 蒲自连,梁 健. 淡黄杜鹃植物挥发油化学成分的研究[J]. 应用与环境生物学报,1999,5(4):371-373.

[9] Wang L F, Lee J Y, Chung J O, et al. Discrimination of teas with different degrees of fermentation by SPME-GC analysis of the characteristic volatile flavour compounds[J]. Food Chemistry, 2008, 109(1):196-206.

[10] Lyu S D, Wu Y S, Zhou J S, et al. Analysis of aroma components of dark teas from five different production regions by fully automatic headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chemical & Pharmaceutical Research, 2014, 6(1):246-253.

[11] 石渝民,邸太妹,杨绍兰,等. 花香型红茶加工过程中香气成分变化分析[J]. 食品科学,2018,39(8):167-175.

[12] 王 晨,吕世懂,廉 明,等. 顶空固相微萃取结合 GC/MS 分析普洱大叶种乔木茶花香气成分[J]. 茶叶科学,2016,36(2):175-183.

[13] 李晋华. 月月粉乙酰基转移酶基因 *RcAAT* 的克隆及功能分析[D]. 昆明:云南农业大学,2017.

[14] Nakamura S. Scent and component analysis of the Hybrid Tea Rose[J]. Perfume Flavor, 1987, 12:43-45.

[15] 苗爱清,李家贤,何玉媚. 秀红红碎茶香气的化学组成[J]. 广东农业科学,1998(4):25-27.