不同产地黄观音乌龙茶的广泛靶向代谢组学分析

邵淑贤[1]，陈潇敏[1]，林燕萍[2]，方德音[3]，蔡捷英[3]，
王金焕[3]，林馨颖[1]，金 珊[1]，叶乃兴[*1]

（1. 福建农林大学 园艺学院，福建 福州 350002；2. 武夷学院 茶与食品学院，福建 武夷山 354300；3. 云霄县茶叶科学研究所，福建 云霄 363300）

摘要：为探究不同产地黄观音乌龙茶品质的差异，采用广泛靶向代谢组学及茶叶感官审评的方法，对云霄和武夷山生产的黄观音乌龙茶代谢物进行分析。结果表明，两地黄观音乌龙茶共测出11类820种代谢物，其中两地一级黄观音乌龙茶筛选出的差异代谢成分63种，占总代谢物的7.68%；两地二级黄观音乌龙茶鉴定出的差异代谢成分120种，占总代谢物的14.63%。KEGG代谢通路分析表明，两地一级黄观音乌龙茶富集程度最高的通路中有3条与黄酮类差异代谢物相关，两地二级黄观音乌龙茶富集程度最高的通路中有2条与氨基酸及其衍生物差异代谢物相关。通过对比不同产地黄观音乌龙茶的呈味物质发现，两地一级黄观音的槲皮素-3-O-桑布双糖苷、山柰酚-3-O-鼠李糖苷、芹菜素-7-O-芸香糖苷、*L*-脯氨酸、*L*-天冬酰胺和γ-氨基丁酸等代谢物含量的差异达到极显著水平；而两地二级黄观音的*L*-谷氨酸、*L*-天冬酰胺和γ-氨基丁酸等代谢物含量的差异达到极显著水平。该研究利用广泛靶向代谢组学技术，筛选出与云霄黄观音和武夷黄观音乌龙茶品质相关的差异代谢物，为阐明两地黄观音乌龙茶的品质特征提供参考。

关键词：乌龙茶；黄观音；代谢组学；差异代谢物

中图分类号：TS 272　**文章编号：**1673-1689(2022)09-0057-11　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2022.09.007

Widely Targeted Metabolomic Analysis of Huang Guanyin Oolong Tea from Different Areas

SHAO Shuxian[1]，*CHEN Xiaomin*[1]，*LIN Yanping*[2]，*FANG Deyin*[3]，*CAI Jieying*[3]，
WANG Jinhuan[3]，*LIN Xinying*[1]，*JIN Shan*[1]，*YE Naixing*[*1]

（1. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. College of Tea and Food Science, Wuyi University, Wuyishan 354300, China; 3. Yunxiao Institute of Tea Science, Yunxiao 363300, China）

Abstract: The metabolites of Huang Guanyin oolong tea produced in Yunxiao and Wuyishan were analyzed by widely targeted metabolomics and sensory evaluation to investigate the quality differences of Huang Guanyin oolong tea from different areas. The results showed that a total of 820 metabolites from 11 classes were identified in Huang Guanyin oolong tea from the two areas. The different metabolic components identified from the first-grade oolong tea were 63, and 120 for the

收稿日期：2021-10-25

基金项目：国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-19)；云霄黄观音品质特征研究项目(KH210229A)；福建张天福茶叶发展基金会科技创新基金项目(FJZTF01)。

***通信作者：**叶乃兴(1963—)，男，硕士，教授，硕士研究生导师，主要从事茶树栽培育种和品质化学研究。E-mail：ynxtea@126.com

second-grade oolong tea, accounting for 7.68% and 14.63% of the total metabolites, respectively. The KEGG metabolic pathway analysis showed that three highest enrichment pathways of the first-grade Huang Guanyin oolong teas from two areas were related to the flavonoid differential metabolites, and two highest enrichment pathways of the second-grade Huang Guanyin oolong teas from two areas were related to the differential metabolites of amino acids and their derivatives. According to the comparison of flavor components in Huang Guanyin oolong teas from different areas, the content of differential metabolites including quercetin-3-O-sambubioside, kaempferol-3-O-rhamnoside, apigenin-7-O-rutinoside, *L*-proline, *L*-asparagine and γ-aminobutyric acid in the first-grade Huang Guanyin oolong tea from two areas were extremely significant, and the content difference of metabolites including *L*-asparagine, *L*-glutamic and γ-aminobutyric acid in the second-grade Huang Guanyin oolong tea from two areas were extremely significant. In this study, the differential metabolites associated with the quality of Yunxiao and Wuyi Huang Guanyin oolong teas were screened out based on the widely targeted metabolomics analysis, providing a reference for elucidating the quality characteristics of Huang Guanyin oolong teas from the two areas.

Keywords: oolong tea, Huang Guanyin, metabolomics, differential metabolites

乌龙茶作为我国第 3 大茶类,主要产区集中于我国闽北地区、闽南地区、广东及台湾地区等地,如武夷岩茶、铁观音、凤凰单丛和东方美人等[1]。由于茶树品种、产地和加工工艺等诸多因素,各种乌龙茶形成了独特的滋味品质[2-3]。滋味作为评价茶叶品质的重要因素之一,受到茶汤中的氨基酸、黄酮类、茶多酚和生物碱等呈味物质的综合影响[4]。茶叶具有明显的地域特色和品质特征,其市场认可度和消费者喜爱程度也各有不同,近年来茶叶区域品牌建设越来越受到人们重视,因此对不同产地茶叶滋味品质特征的研究具有一定的研究意义和价值。

液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)的广泛靶向代谢组学是一种高通量检测与数据多元统计分析相结合的快速、可靠的方法,可用于检测经济作物,如枸杞[5]、枇杷[6]、柚子[7]和茶[8]等的多种代谢物。近年来,基于代谢组学对茶叶化学品质特征的相关研究也成为茶叶研究热点之一,杨晨等采用 UHPLC-Q-TOF/MS 对不同产地普洱生茶的非挥发性代谢物进行分析,发现不同产地普洱生茶的化学成分具有明显产地特征[9]。邱晓红等利用儿茶素组分和生物碱含量来区分福建不同产地水仙茶,认为福建水仙茶滋味特征的形成与产地密切相关[10]。林洁鑫等采用 UPLC-MS/MS 对两地红茶的代谢产物进行比较,发现两地红茶具有不同的呈味特点[11]。前人这些研究阐明了不同产地、品种茶间的品质差异,但多从产地和品种的角度解释差异,而等级对茶叶品质的影响不可忽视[12-13]。目前,对于乌龙茶品质和等级与产地之间的关系鲜有报道。

黄观音是福建省农业科学院茶叶研究所从铁观音(母本)和黄旦(父本)人工杂交 F1 代中单株选育成的高香型国家级优良茶树品种[14]。黄观音是福建省的主栽品种,并在全国广泛种植。以黄观音鲜叶为原料制成的乌龙茶品质优异,滋味醇厚甘爽,香气特征趋向父本,具有“通天香”[14]。近年来,黄观音在云霄、武夷山等地大面积种植,云霄黄观音品质优异,独具“花香蜜韵”,云霄县已将“云霄黄观音”打造成茶叶公共品牌。武夷山作为乌龙茶的发源地,在茶叶发展史上具有重要地位[15]。因此,为更全面地了解不同产地对黄观音乌龙茶品质的影响,选取云霄黄观音和武夷黄观音乌龙茶样品,应用广泛靶向代谢组学技术对其主要呈味物质进行比较分析,探究两地黄观音乌龙茶的品质差异。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试样品为 2020 年春季黄观音乌龙茶。云霄黄观音乌龙茶由云霄县茶叶科学研究所提供(10 份市售代表性茶样),武夷黄观音乌龙茶由武夷学院茶与食品学院提供(10 份市售代表性茶样)。

甲醇、乙腈(均为色谱纯):上海默克化工技术

有限公司产品; 色谱纯标准品:BioBioPha 公司和 Sigma-Aldrich 公司产品。

1.2 实验仪器

5424R 2 Eppendorf 离心机:艾本德中国有限公司产品;MM 400 研磨机: 德国 Retsch 公司产品; Shim-pack UFLC SHIMADZU CBM30A 超高效液相色谱: 日本岛津公司产品;Applied Biosystems 6500 QTRAP 三重四级杆质谱仪:美国赛默飞世尔科技公司产品;SB-C_{18} 色谱柱:美国安捷伦公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 茶叶感官审评方法 由 5 位国家一级评茶师作为审评专家,根据 GB/T23776—2018《茶叶感官审评方法》中的乌龙茶盖碗审评法进行审评,以标准中 5 项因子的综合评分作为样品等级的判定依据,对样品的外形、香气、汤色、滋味和叶底进行评价。从 20 个黄观音乌龙茶样品中筛选出具有两地代表性的茶样, 综合评分大于 90 分的样品评定为一级,低于 90 分且高于 80 分的样品判定为二级。

1.3.2 代谢组学测定方法

1)样品前处理 利用研磨仪将茶样研磨(30 Hz、1.5 min) 至粉末状, 称取 0.1 g 茶粉溶解于 1.2 mL 70%(体积分数)甲醇提取液中;提取液每 30 min 涡旋一次,持续 30 s,涡旋 6 次以提高提取率;涡旋后将样品置于 4 ℃冰箱,过夜;离心(12 000 r/min、10 min)后吸取上清液,用微孔滤膜(0.22 μm)过滤样品,并保存于进样瓶中,用于后续 LC-MS/MS 分析。

2)LC-MS/MS 分析条件 利用超高效液相色谱(ultra-performance liquid chromatography,UPLC)和串联质谱(tandem mass spectrometry,MS/MS)数据采集仪器系统对物质进行鉴定。

色谱条件:色谱柱(1.8 μm,2.1 mm×100 mm);流动相:A 相为超纯水 (加入体积分数 0.1%的甲酸),B 相为乙腈(加入体积分数 0.1%的甲酸);洗脱梯度:0 min,B 相体积分数为 5%;9 min 内 B 相体积分数线性增加到 95%, 并在 95%维持 1 min;10~11.1 min,B 相体积分数降为 5%,并以 5%平衡至 14 min;柱温:40 ℃;进样量:4 μL;流量:0.35 mL/min。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI),温度 550 ℃;正离子模式质谱电压 5 500 V, 负离子模式质谱电压 -4 500 V;离子源气体 I(GS I)、气体 II(GS II)和帘气 (CUR) 分别设置为 0.344 7、0.413 7、0.172 3 MPa,碰撞诱导电离(CAD)参数设置为高;碰撞气体(氮气)设置为中等,三重四级杆(triple quadrupole,QQQ)扫描使用 MRM 模式;在 QQQ 中,每个离子对根据优化的去簇电压 (declustering potential,DP)和碰撞能(collision energy,CE)进行扫描检测。

1.4 数据分析

参考 Wang 等的方法[16],基于碎片模式、保留时间、*m/z* 与迈维 (武汉) 生物技术有限公司自建 MVDB V2.0 数据库和公共数据库的标准对物质进行定性,代谢物定量利用多反应监测模式分析。获得不同样本的代谢物质谱后,对物质质谱峰的峰面积进行积分,同时对不同样品中同一代谢物的质谱峰进行积分校正, 利用软件 Analyst 1.6.3 处理质谱数据。对鉴定的代谢物进行主成分分析(principal component analysis,PCA)和正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis,OPLS-DA)。基于 OPLS-DA 模型获得的变量重要性投影 (variable importance in project,VIP)进行评分, 根据 VIP≥1、Fold Change≥2 或 Fold Change≤0.5 筛选出的代谢物定义为差异代谢物(significant changed metabolites,SCMs)。利用 KEGG 代谢库将鉴定出的差异代谢物进行比对并注释[17],进行相关代谢通路的分析。

2 结果与分析

2.1 云霄黄观音与武夷黄观音感官品质分析

对不同产地黄观音乌龙茶的外形、汤色、香气、滋味和叶底进行感官审评,一级综合评分均高于 90 分,二级综合评分均高于 80 分,审评结果见表 1。结果表明, 云霄黄观音乌龙茶滋味多以浓醇为主,武夷黄观音乌龙茶滋味多以浓厚为主。根据两地黄观音乌龙茶的感官审评滋味特点和品质得分,确定待测样品为 YX1、YX2、WY1 和 WY2 (见图 1)。样品中,两地一级黄观音乌龙茶滋味均具有鲜味和花蜜香特征。

2.2 不同产地黄观音乌龙茶广泛靶向代谢组学分析

为研究不同产地黄观音乌龙茶间的滋味差异,对武夷山和云霄县各两个等级的黄观音乌龙茶进行广泛靶向的 LC-MS/MS 代谢谱分析。共测出 11 类 820 种代谢产物,其中包括大量可能影响茶汤滋味的代谢产物,包括黄酮类、氨基酸及其衍生物、核苷酸及其衍生物、生物碱、有机酸以及其他初级和次级代谢产物。

表 1　20 份黄观音乌龙茶感官审评结果

Table 1　Sensory evaluation results of 20 samples of Huang Guanyin oolong tea from different areas

产地	代号	等级	外形	汤色	香气	滋味	叶底	品质得分
云霄	YX1	一级	条索较紧结 色泽黄褐	金黄	花蜜香,鲜锐	浓醇,鲜锐	叶质柔软 色泽黄较亮,红边显	92
	YX2	二级	条索紧结 色泽黄褐乌润	深橙黄	花香	浓醇	叶质柔软 色泽黄较亮	85
	YX3	一级	条索细紧 色泽黄褐乌润	金黄	花蜜香	浓醇,微涩	叶质柔软 色泽黄较亮	91
	YX4	一级	条索细紧 色泽黄褐较润	深金黄	花蜜香	浓醇,微涩	叶质柔软 色泽黄较亮	93
	YX5	—	条索较紧结 色泽黄褐	深金黄	青气,带花香	青苦	叶质柔软 色泽黄较亮,红边显	78
	YX6	—	条索细紧 色泽黄褐	深金	烟气	青苦	色泽黄绿明亮, 红边显	77
	YX7	一级	条索较紧结 色泽黄褐	金黄	花蜜香	浓强爽,回甘力强	色泽黄亮	92
	YX8	—	条索粗松 色泽黄褐	金黄	青气,烟气	青苦	色泽黄绿,红边显	78
	YX9	二级	条索紧结 色泽乌润	橙红	火功香	醇和	叶质较柔软 色泽褐色	80
	YX10	一级	条索细紧 色泽黄褐	深金黄	花蜜香	浓醇,回甘力强	色泽黄亮,红边显	92
武夷山	WY1	一级	条索紧结 色泽黄褐	橙黄	花蜜香,幽长	浓厚,甘爽	色泽黄较亮	92
	WY2	二级	条索较紧结 色泽黄褐	橙黄	花香	浓厚	色泽黄亮,红边显	85
	WY3	一级	条索紧结 色泽黄褐	橙黄	花蜜香,幽长	浓厚,鲜锐	叶质软亮 色泽黄亮,红边显	96
	WY4	一级	条索较紧结 色泽黄褐	橙黄	花香幽长	醇厚,岩韵	色泽黄较亮	95
	WY5	一级	条索紧结 色泽乌润	橙红	花香,火功香	浓厚	色泽黄较亮	90
	WY6	二级	条索较紧结 色泽黄褐	橙黄	花香	浓厚	色泽黄较亮	80
	WY7	一级	条索较紧结 色泽乌润	橙黄	花香带果	浓厚,鲜锐	色泽黄较亮	90
	WY8	一级	条索紧结 色泽乌润	橙黄	果甜香	浓厚	色泽黄亮,红边显	92
	WY9	一级	条索紧结 色泽乌润	橙红	花果香	浓醇	色泽黄较亮	90
	WY10	—	条索紧结 色泽乌润	深橙红	青气,烟味	醇和,烟燥气	色泽褐色	78

注:“—”表示未评定等级。

2.3　不同产地黄观音乌龙茶的相关性分析

对这些共有代谢物进行 PCA 发现,同等级不同产地的样品之间被明显地区分开来,显著性为 0.01(见图 2(a))。为消除数量对模式识别的影响,对每个代谢物的峰面积进行对数转换,随后进行层次聚类分析(见图 2(b)),发现两个等级的黄观音乌龙茶属于不同的类群。主成分分析和聚类分析结果表明,不同产地及等级的黄观音乌龙茶具有不同的代

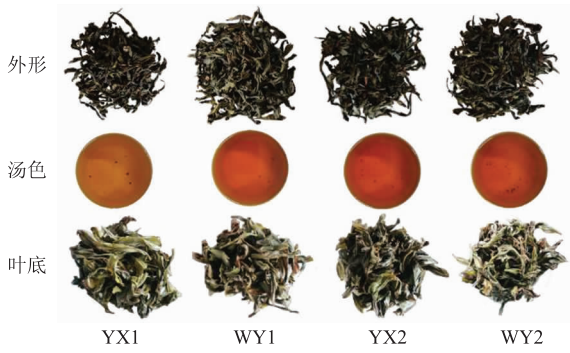
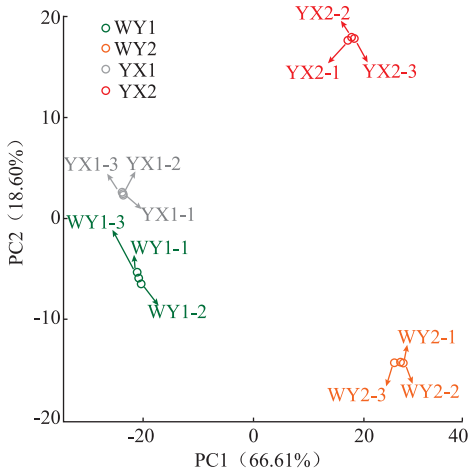
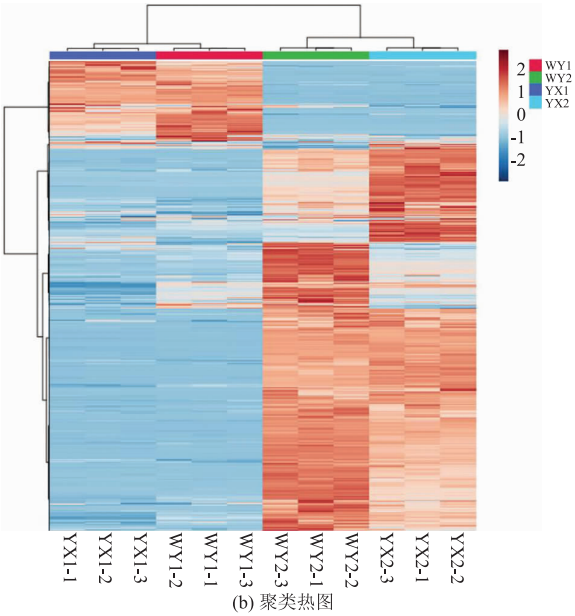


图 1　不同产地黄观音乌龙茶的外形、汤色和叶底

Fig. 1　Shape, soup and infused leaves of Huang Guanyin oolong tea from different areas



(a) PCA图



(b) 聚类热图

图 2　黄观音乌龙茶代谢物的 PCA 图和聚类热图

Fig. 2　PCA score plot and clustering heatmap of metabolites from Huang Guanyin oolong tea

谢特征。

为了鉴别出具体有哪些差异代谢物造成了分离现象，建立 2 组同等级不同产地黄观音乌龙茶 OPLS-DA 模型，表 2 为模型评价参数。OPLS-DA 结合正交信号矫正（OSC）和偏最小二乘法判别分析（PLS-DA）方法，通过去除不相关的差异来筛选差异变量。在这 2 组模型中R^2_Y 和 Q^2 的值均大于 0.9，说明这 2 组模型构建良好，该样本预测性可靠。

表 2　OPLS-DA 的参数

Table 2　Parameters of OPLS-DA analysis

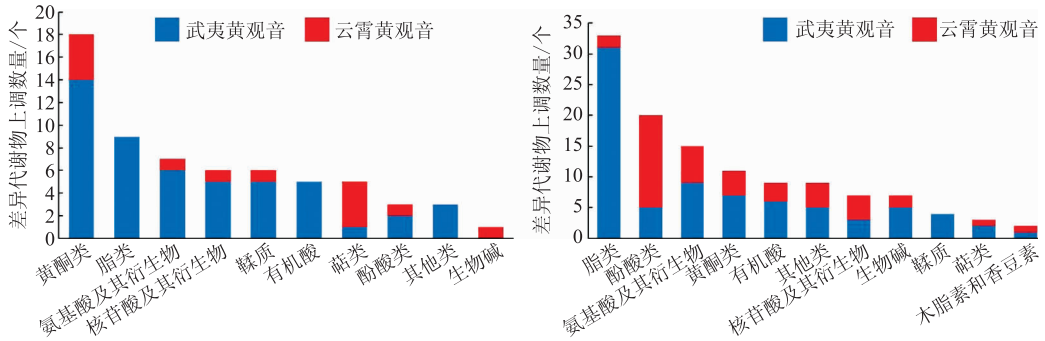
样品	R^2_X	R^2_Y	Q^2
一级黄观音乌龙茶	0.595	0.999	0.967
二级黄观音乌龙茶	0.684	1.000	0.983

2.4　不同产地黄观音乌龙茶差异代谢物的分析

2.4.1　差异代谢物的筛选　为了鉴定不同产地黄观音乌龙茶差异代谢物的特点，通过 OPLS-DA 模型，根据 VIP≥1、上调代谢物 Fold Change≥2 和下调代谢物 Fold Change≤0.5 筛选出显著差异代谢物。鉴定出同等级的两地黄观音乌龙茶分别存在 63 种和 120 种差异代谢物，这些代谢物可分为不同类别，主要包括氨基酸及其衍生物、核苷酸及其衍生物、酚酸类、黄酮类、萜类、鞣质、有机酸和脂质等（见图 3）。整体上不同产地的一级黄观音乌龙茶差异代谢成分（63 种）占共有代谢成分（820 种）的 7.68%，二级黄观音乌龙茶差异代谢成分（120 种）占共有代谢成分（820 种）的 14.63%，说明同等级不同产地的黄观音乌龙茶代谢物质存在差异。

与同等级的云霄黄观音相比，武夷黄观音有更多的差异代谢物呈上调趋势，WY1 有 50 种差异代谢产物呈上调趋势，占两地一级黄观音总差异代谢物的 79.37%；WY2 有 78 种差异代谢物呈上调趋势，占两地二级黄观音总差异代谢物的65.00%。

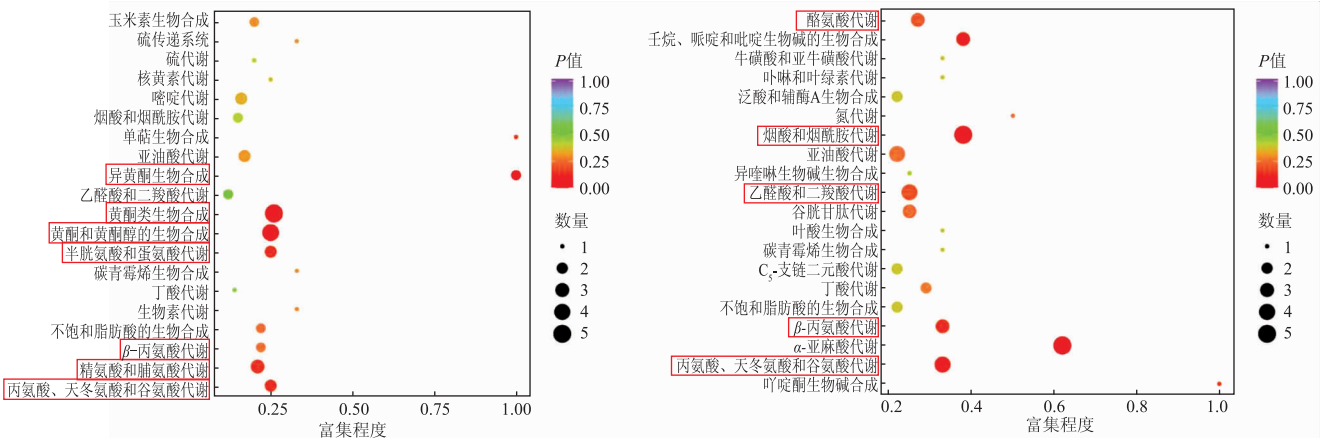
2.4.2　差异代谢物 KEGG 富集分析　通过 KEGG 数据库将差异代谢物进行通路富集分析。一级和二级黄观音乌龙茶中鉴定出来的 63 种和 120 种显著差异代谢物主要分布在 20 条代谢途径中（见图4）。两地一级黄观音差异代谢物富集程度最高的前 5 条通路分别是：异黄酮生物合成、黄酮类生物合成、黄酮和黄酮醇的生物合成、单萜生物合成、半胱氨酸和蛋氨酸代谢；两地二级黄观音差异代谢物富集程度最高的前 5 条通路分别是：α-亚麻酸代谢，烟酸和烟酰胺代谢，丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢，



(a) 一级黄观音乌龙茶　　(b) 二级黄观音乌龙茶

图 3　不同产地黄观音乌龙茶差异代谢物

Fig. 3　Differential metabolites in Huang Guanyin oolong tea from different areas



(a) 两地一级黄观音乌龙茶　　(b) 两地二级黄观音乌龙茶

图 4　差异代谢物 KEGG 富集图

Fig. 4　KEGG enrichment map of differential metabolites

苄烷、哌啶和吡啶生物碱的生物合成，β-丙氨酸代谢。

两地一级黄观音差异代谢物在 KEGG 数据库注释的途径中，存在 7 条与两地一级黄观音品质相关的代谢途径(见图 4)，包括 17 种关键的显著差异代谢物(见图 5)。其中，差异代谢物富集程度最高的前 5 条通路中有 3 条通路与 11 种黄酮类差异代谢物相关，包括异黄酮生物合成、黄酮类生物合成、黄酮和黄酮醇的生物合成。柚皮素查尔酮作为黄酮类物质合成途径中必不可少的前体物质，在武夷黄观音中显著上调 2.81 倍。柚皮素和芹菜素作为这 3 条代谢途径共有的差异代谢物，在武夷黄观音中分别显著上调 2.90 倍和 2.64 倍。山柰酚是异黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成的共有差异代谢物，在武夷黄观音中显著上调 2.26 倍。异黄酮生物合成途径中所注释的差异代谢物上调倍数均在 2.00 倍以上，如香橙素、柚皮素查尔酮、圣草酚、山柰酚和根皮素。黄酮及黄酮醇的生物合成通路中槲皮素-3-O-桑布双糖苷在武夷黄观音中上调达到 7.49 倍，Li 等研究表明槲皮素-3-O-桑布双糖苷具有促进神经中枢兴奋的作用，认为武夷黄观音可能更具有促进兴奋的作用[18]。硫是植物生长发育所需的大量营养元素之一[19]，半胱氨酸和蛋氨酸的代谢通路与含硫有机物合成相关，在这一途径中的 O-乙酰丝氨酸在云霄黄观音中显著上调 2.79 倍。丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路中 L-天冬酰胺在武夷黄观音中显著上调 2.39 倍，γ-氨基丁酸作为这两条代谢通路中必不可少的物质，在武夷黄观音中显著上调 3.14 倍。Liao 等研究表明 γ-氨基丁酸作为一种信号分子，被认为是茶树碳氮代谢的交汇点[20]。Ren 等认为 γ-氨基丁酸多与类黄酮代谢中酶活性成正相关，可能作为信号分子参与黄酮类化合物代

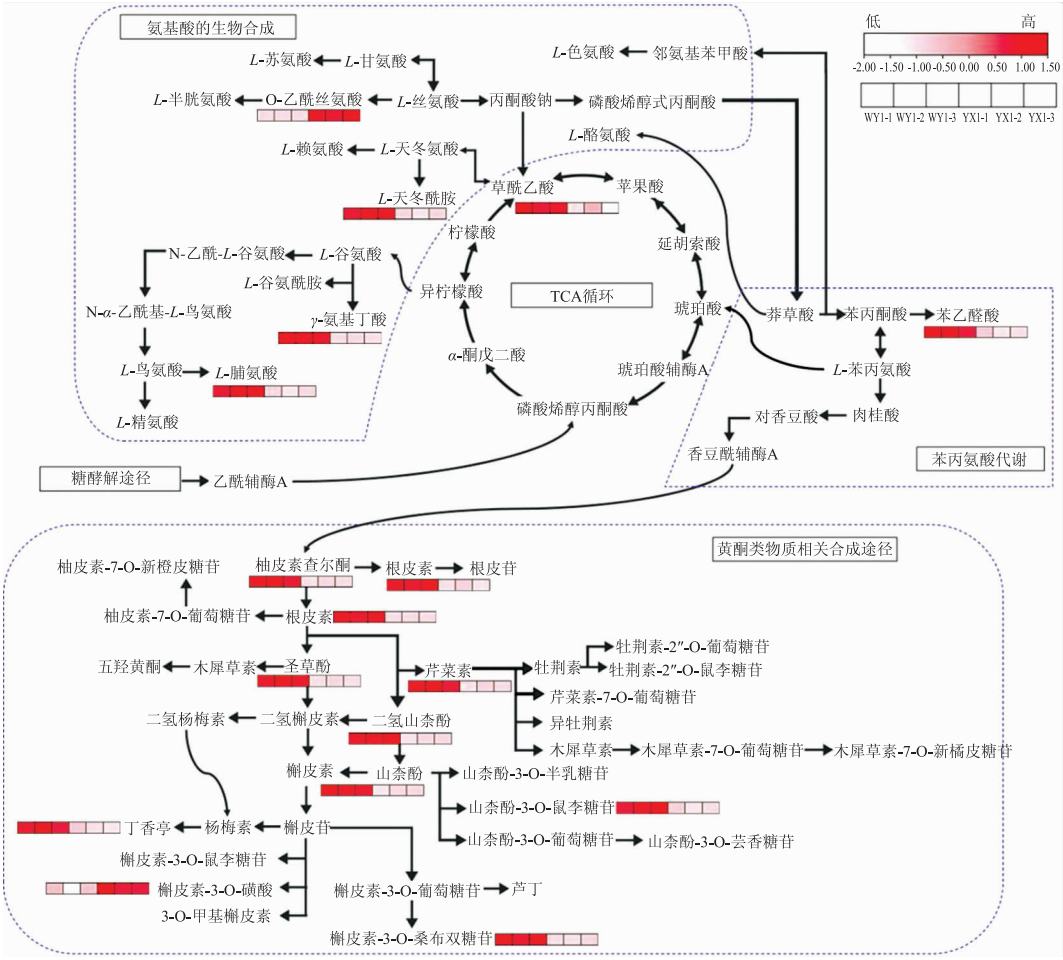


图 5　两地一级黄观音乌龙茶关键差异代谢物的代谢途径

Fig. 5　Metabolic pathways of the key differential metabolites of first-grade Huang Guanyin oolong tea from different areas

谢的调节[21]。

两地二级黄观音差异代谢物在 KEGG 数据库注释的途径中,存在 5 条与两地二级黄观音品质相关的代谢途径(见图 4),包括 13 种关键的显著差异代谢物(见图 6)。其中,差异代谢物富集程度最高的前 5 条通路中有 2 条与氨基酸类物质合成相关的代谢途径,包括丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢以及 β-丙氨酸代谢。丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路中的 *L*-天冬酰胺、*L*-谷氨酸和草酰乙酸均在武夷黄观音中显著上调,值得注意的是,*L*-天冬酰胺显著上调 5.10 倍。烟酸和烟酰胺代谢途径中鉴定出 5 种差异代谢物,其中,具有一定保健功效的烟酸在云霄黄观音中显著上调 2.20 倍。乙醛酸和二羧酸代谢通路中鉴定出 3 种差异代谢物,酪胺在云霄黄观音中显著上调 2.25倍,该物质存在于发酵茶中[22]。

2.4.3　主要滋味成分比较　根据差异代谢物 KEGG 的富集通路分析结果,把研究重点放在可能对两地黄观音乌龙茶滋味产生影响的差异代谢物上,如黄酮类、氨基酸及其衍生物类。

在两地一级黄观音乌龙茶中,基于 Fold Change (FC)和 VIP 值,鉴定出 18 种黄酮类差异代谢物和 7 种氨基酸及其衍生物类差异代谢物(见图 7(a)、7(b))。涩味是形成乌龙茶特有滋味的重要因素之一[23],黄酮类物质对茶汤的苦涩味有一定贡献[24]。一级武夷黄观音中含有较丰富的黄酮醇糖苷及其前体物质,如香橙素、柚皮素、柚皮素查尔酮、圣草酚、山柰酚、槲皮素、根皮素-3-O-桑布双糖苷、山柰酚-3-O-鼠李糖苷和芹菜素-7-O-芸香糖苷等。杨梅素、

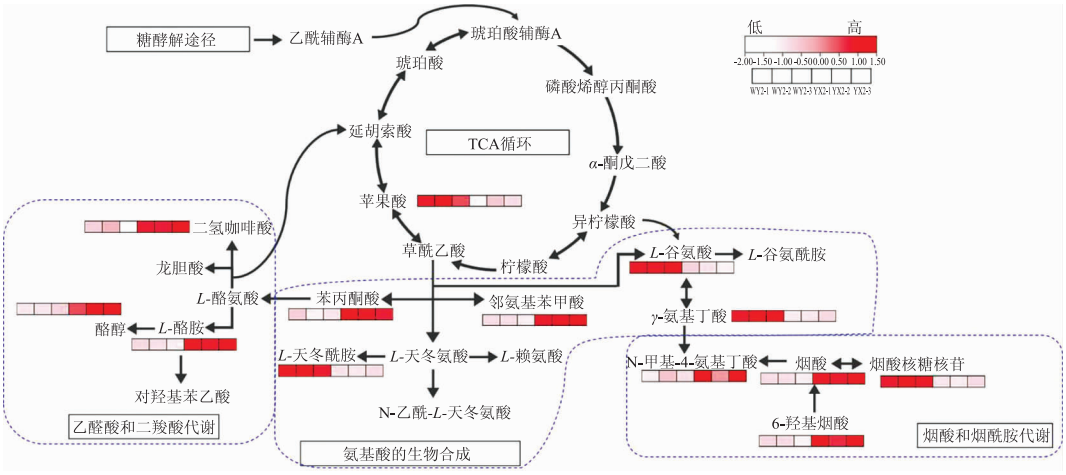


图 6　两地二级黄观音乌龙茶关键差异代谢物的代谢途径

Fig. 6　Metabolic pathways of the key differential metabolites of second-grade Huang Guanyin oolong tea from different areas

槲皮素和山柰酚是茶叶中常见的黄酮醇类,其不同的苷元与糖基结合形成了不同的黄酮醇糖苷。黄酮苷类物质阈值极低,呈味特征是较柔和的涩感[4]。前人研究发现黄酮醇糖苷对咖啡因的苦味有增强作用[25],黄酮醇糖苷类物质含量低,则滋味醇和,反之则苦涩[26]。游离氨基酸作为茶汤鲜味的主要贡献成分,对茶叶品质有重要贡献[27-28]。两地一级黄观音中*L*-脯氨酸、*L*-天冬酰胺和 γ-氨基丁酸被鉴定为差异代谢物,且均在武夷黄观音中呈上调趋势。*L*-脯氨酸和 *L*-天冬酰胺是茶叶中直接影响茶汤鲜爽度和口感的鲜味氨基酸[28-29]。γ-氨基丁酸作为茶叶中的非蛋白质游离氨基酸，对收敛性涩味有贡献[28]。Ren 等研究表明 γ-氨基丁酸可能参与黄酮类化合物代谢的调节[21]。这些差异物质可能对两地黄观音乌龙茶的滋味形成具有一定贡献,其中黄酮类物质可能对区分两地一级黄观音乌龙茶的滋味特征具有积极作用。

在两地二级黄观音乌龙茶中，基于 FC 和 VIP 值,鉴定出 11 种黄酮类差异代谢物和 14 种氨基酸及其衍生物类差异代谢物(见图 7(c)、7(d))。其中 3 种游离氨基酸被鉴定为差异代谢物,包括 *L*-谷氨酸、*L*-天冬酰胺和 γ-氨基丁酸，它们均在武夷黄观音中呈上调趋势。相比于一级黄观音,具有鲜味特征的游离氨基酸在二级黄观音乌龙茶中含量较低。二级武夷黄观音中也含有较丰富的黄酮类差异代谢物,如异鼠李素-3-O-芸香糖苷、表茶黄酸-3-O-没食子酸等，但作为黄酮醇糖苷前体物质的杨梅素,在二级云霄黄观音中显著上调 2.58 倍。两地二级黄观音的 20 条主要 KEGG 富集通路中没有发现与黄酮类物质相关的代谢通路。但黄酮苷类物质阈值极低,前人研究表明黄酮苷类物质可与其他物质相互作用,从而对茶叶滋味品质产生影响[26,30]。二级黄观音中的黄酮糖苷类物质含量更高,其可能与茶叶滋味品质呈负相关[30]。

对比不同产地及等级黄观音乌龙茶的呈味物质发现,云霄黄观音乌龙茶呈苦涩味的黄酮糖苷类物质含量较低,可能是其滋味具有醇和特征的原因[26],而武夷黄观音滋味醇厚的原因也可能是具有丰富的黄酮糖苷类和氨基酸类物质。一级黄观音乌龙茶滋味更具鲜爽特征,可能与其含有丰富的氨基酸类物质密不可分,这与前人的研究结果一致[12]。不同产地黄观音乌龙茶在黄酮类物质和氨基酸含量上的差异可能也与不同的加工工艺相关,Liu 等研究表明随着半发酵时间的延长,乌龙茶中黄酮醇或黄酮糖苷类物质含量有所增加[31],氨基酸的含量在加工过程中也会发生变化[32]。

3　结　语

采用 UPLC-MS/MS 技术,对同等级不同产地的黄观音乌龙茶非挥发性物质进行比较分析。结果表明,不同产地黄观音乌龙茶的非挥发性物质含量具有较大差异,呈味物质含量在分布上具有明显的产地特征。其中,两地一级黄观音乌龙茶差异代谢成分(10 类 63 种)和两地二级黄观音乌龙茶差异代谢

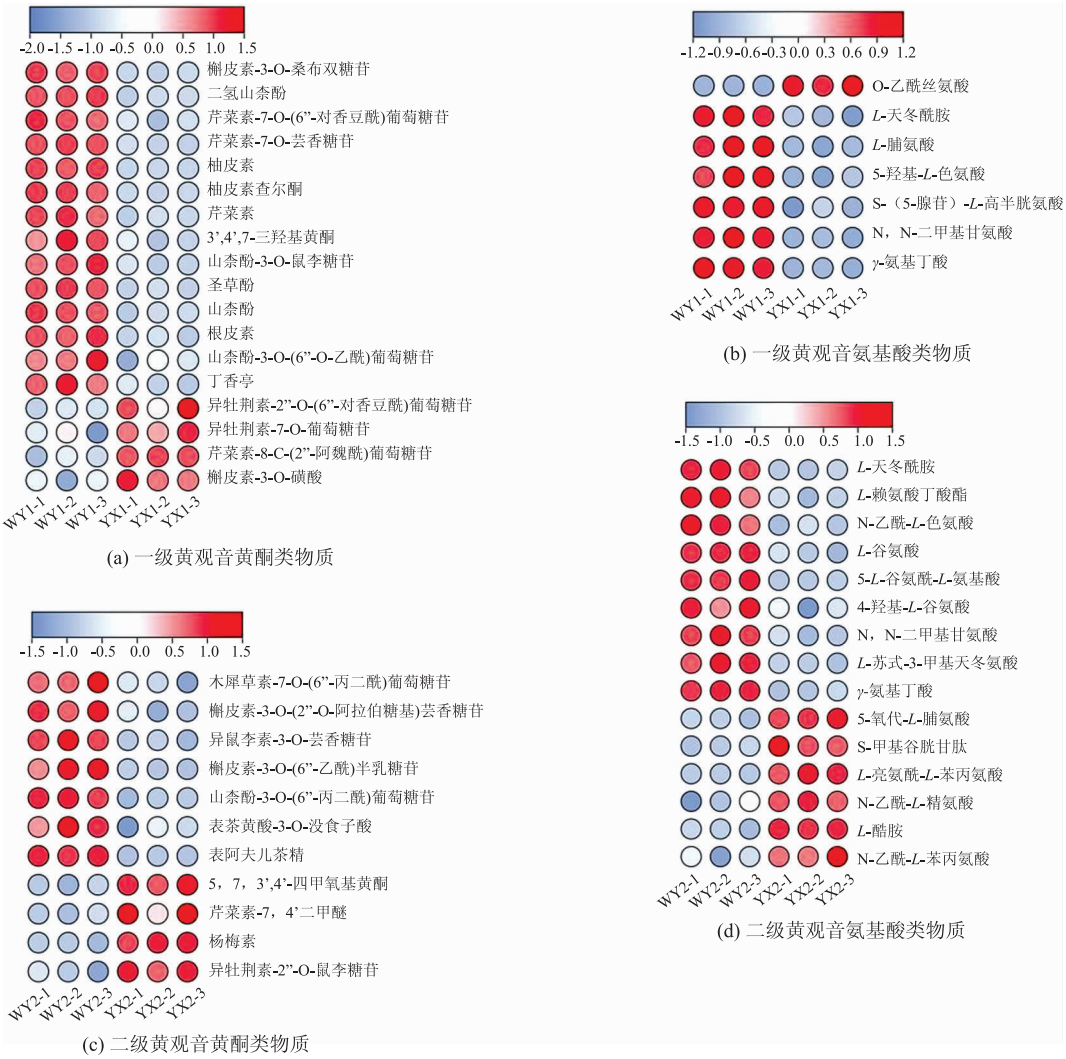


图 7　两地黄观音乌龙茶主要差异代谢物热图

Fig. 7　Heat map of the main differential metabolites in Huang Guanyin oolong tea from two areas

成分(11 类 120 种)分别占共有代谢成分(11 类 820 种)的 7.68%和 14.63%。KEGG 代谢通路分析发现,两地一级黄观音差异代谢物在黄酮类和氨基酸及其衍生物相关代谢通路的富集程度较高,两地二级黄观音差异代谢物在氨基酸及其衍生物、烟酸和烟酰胺代谢通路的富集程度较高。基于 FC 与 VIP 值,进一步筛选到与滋味品质相关的槲皮素-3-O-桑布双糖苷、山柰酚-3-O-鼠李糖苷、芹菜素-7-O-芸香糖苷、*L*-脯氨酸、*L*-天冬酰胺和 γ-氨基丁酸等代谢物,且含量在两地一级黄观音中的差异达到显著水平;*L*-谷氨酸、*L*-天冬酰胺和 γ-氨基丁酸等差异代谢物含量在两地二级黄观音中的差异达到显著水平。通过对影响两地同等级黄观音乌龙茶滋味品质的代谢物进行比较,有利于弥补茶叶产地鉴别通常依赖感官判定的不足,为辨别云霄黄观音与武夷黄观音乌龙茶提供理论参考。由于不同产地及等级黄观音乌龙茶的滋味品质还可能受到其他因素的影响,还需进一步控制变量并增加样本,同时课题组在后续研究中,将结合电子鼻、电子舌和近红外光谱等技术,为云霄黄观音和武夷黄观音乌龙茶的品质评定提供客观依据。

参考文献:

[1] 叶乃兴. 茶学概论[M]. 第二版. 北京:中国农业出版社,2020.

[2] WU L Y,HUANG X J,LIU S R,et al. Understanding the formation mechanism of oolong tea characteristic non-volatile chemical constitutes during manufacturing processes by using integrated widely-targeted metabolome and DIA proteome analysis[J]. **Food Chemistry**,2020,310:1-8.

[3] YU L C,JUN D,YUE M J,et al. Production,quality,and biological effects of oolong tea (*Camellia sinensis*)[J]. **Food Reviews International**,2010,27(1):1-15.

[4] 刘阳,陈根生,许勇泉,等. 冲泡过程中西湖龙井茶黄酮苷类浸出特性及滋味贡献分析[J]. 茶叶科学,2015,35(3):217-224.

[5] 彭玉娇,崔学宇,邵元元,等. 利用 LC-MS 技术解析黑果枸杞、红果枸杞代谢物的差异[J]. 食品与生物技术学报,2021,40(9):56-63.

[6] ZOU S C,WU J C,SHAHID M Q,et al. Identification of key taste components in loquat using widely targeted metabolomics[J]. **Food Chemistry**,2020,323:1-6.

[7] ZHOU C H,LIU Q,ZHOU X Y,et al. Metabolic variations of organic acids,amino acids,fatty acids and aroma compounds in the pulp of different pummelo varieties[J]. **LWT – Food Science and Technology**,2020,130:1-9.

[8] 杨纯,颜鸿飞,吕小园,等. 元素指纹图谱用于安化黑茶的原产地判别[J]. 食品科学,2020,41(16):286-291.

[9] 杨晨,戴伟东,吕美玲,等. 基于 UHPLC-Q-TOF/MS 的不同产地普洱生茶化学成分差异研究[J]. 茶叶科学,2017,37(6):605-615.

[10] 邱晓红,张丹丹,陈静,等. 基于 HPLC 和模式识别方法的福建水仙茶产地判别分析[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2017,46(3):260-264.

[11] 林洁鑫,王鹏杰,金珊,等. 基于广泛靶向代谢组学的不同产地红茶代谢产物比较分析[J]. 食品工业科技,2022,43(2):9-19.

[12] 徐邢燕,陈思,俞晓敏,等. 不同烘焙程度与等级武夷肉桂茶品质差异分析[J]. 食品科学,2020,41(13):22-28.

[13] LI M H,PAN T H,CHEN Q. Estimation of tea quality grade using statistical identification of key variables[J]. **Food Control**,2021,119:1-7.

[14] 郭吉春,叶乃兴,杨如兴,等. 茶树杂交种金观音、黄观音的选育与应用[J]. 福建茶叶,2008(1):11-14.

[15] 周志,薛俊鹏,卓座品,等. 一方水土养一方茶:产地影响武夷岩茶品质的代谢组基础[J]. 中国科学:生命科学,2019,49(8):1013-1023.

[16] WANG P J,ZHENG Y C,GUO Y C,et al. Widely targeted metabolomic and transcriptomic analyses of a novel albino tea mutant of "Rougui"[J]. **Forests**,2020,11(2):1-15.

[17] KANEHISA M,GOTO S. KEGG:kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. **Nucleic Acids Research**,2000,28(1):27-30.

[18] LI X,YANG L P,LIU S Y,et al. Effect of quercetin-3-O-sambubioside isolated from *Eucommia ulmoides* male flowers on spontaneous activity and convulsion rate in mice[J]. **Planta Medica**,2014,80(12):974-977.

[19] 王小芳,杨玲娟,董晓宁,等. 植物半胱氨酸合成及调控研究进展[J]. 植物生理学报,2011,47(1):37-48.

[20] LIAO J R,SHEN Q,LI R Y,et al. GABA shunt contribution to flavonoid biosynthesis and metabolism in tea plants (*Camellia sinensis*)[J]. **Plant Physiology and Biochemistry**,2021,166:849-856.

[21] REN T Y,ZHENG P C,ZHANG K X,et al. Effects of GABA on the polyphenol accumulation and antioxidant activities in tea plants(*Camellia sinensis* L.) under heat-stress conditions[J]. **Plant Physiology and Biochemistry**,2021,159:363-371.

[22] CEMILE Y,FERAMUZ Ö,VURAL G. Investigation of free amino acids,bioactive and neuroactive compounds in different types of tea and effect of black tea processing[J]. **LWT – Food Science and Technology**,2020,117:1-7.

[23] HAYASHI N,UJIHARA T,CHEN R G,et al. Objective evaluation methods for the bitter and astringent taste intensities of black and oolong teas by a taste sensor[J]. **Food Research International**,2013,53(2):816-821.

[24] ZHUANG J H,DAI X L,ZHU M Q,et al. Evaluation of astringent taste of green tea through mass spectrometry-based targeted metabolic profiling of polyphenols[J]. **Food Chemistry**,2020,305:1-8.

[25] SCHARBERT S,HOFMANN T. Molecular definition of black tea taste by means of quantitative studies,taste reconstitution,and

omission experiments[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2005,53(13):5377-5384.
[26] 吴春燕. 不同茶树品种中黄酮苷含量的测定[D]. 杭州:浙江大学,2012.
[27] 陈思彤,赵峰,王淑燕,等. 基于 AQC 衍生和液质联用的茶叶游离氨基酸分析[J]. 南方农业学报,2019,50(10):2278-2285.
[28] 张丹丹,叶小辉,赵峰,等. 基于游离氨基酸组分的白茶滋味品质研究[J]. 福建农业学报,2016,31(5):515-520.
[29] 李燕,王文富,王金涛,等. 不同冲泡次数普洱生茶浸出物含量及滋味品质变化分析[J]. 食品科学,2022,43(12):210-218.
[30] 宋楚君. 中小叶种茶树中的黄酮醇苷及其对龙井茶滋味品质的影响[D]. 杭州:浙江大学,2020.
[31] LIU P P,YIN J F,CHEN G S,et al. Flavor characteristics and chemical compositions of oolong tea processed using different semi-fermentation times[J]. **Journal of Food Science and Technology**,2018,55(3):1185-1195.
[32] 邓慧莉,李鑫磊,毛贻帆,等. 不同做青温度对乌龙茶滋味与香气品质的影响[J]. 食品安全质量检测学报,2021,12(14):5766-5771.

科　技　信　息

加拿大允许在食品中使用绿茶提取物作为补充成分

2022 年 7 月 28 日,加拿大卫生部发布 NOP/ADPSI-001 号咨询文件,拟批准绿茶提取物(表没食子儿茶素没食子酸酯,EGCG)为食品补充剂允许使用的成分。使用要求为:1)最大食用量为每份含 100 mg EGCG 或 200 mg 总儿茶素;2)所有含有 EGCG 或儿茶素成分的产品应标注警示声明,即(a)“仅限成人(18 岁或以上)”及“不建议孕妇或哺乳期妇女食用”等;(b)每份含有超过 60 mg EGCG 或 120 mg 总儿茶素的食品补充剂需要额外标注警示声明,即“每天食用量不应超过 300 mg EGCG 或 600 mg 总儿茶素”。该咨询文件意见反馈期截至 2022 年 10 月 3 日。

[信息来源]中华人民共和国商务部.加拿大允许在食品中使用绿茶提取物作为补充成分[EB/OL]. (2022-7-4).http://chinawto.mofcom.gov.cn/article/jsbl/zcfg/202208/20220803340417.shtml.

欧盟批准谷氨酸棒杆菌 KCCM 80187 发酵产生的味精作为动物饲料添加剂

欧盟委员会 2022 年 7 月 20 日第 2022/1266 号执行法规,批准谷氨酸棒杆菌 KCCM 80187 发酵产生的味精作为所有动物物种的饲料添加剂。根据欧洲委员会（EC）第 1831/2003 号法规第 7 条，已提交申请，要求对谷氨酸棒杆菌 KCCM 80187 发酵产生的味精的相关授权。该申请涉及授权将味精作为所有动物物种的饲料添加剂,归入“感官类添加剂”类别和“调味化合物”功能组。申请人要求授权在饮用水中使用该添加剂。然而,EC 第 1831/2003 号法规不允许授权在饮用水中使用“调味化合物”。因此,不允许在饮用水中使用谷氨酸棒杆菌 KCCM 80187 发酵产生的味精。欧洲食品安全局(EFSA)在 2021 年 11 月 10 日的意见中认为,在拟议的使用条件下,谷氨酸棒杆菌 KCCM 80187 发酵产生的味精不会对动物健康、人类健康或环境产生不利影响。EFSA 在意见中还认为,该添加剂吸入后无毒性,对皮肤或眼睛无刺激性,也不是皮肤致敏物。安全局进一步得出结论，味精有助于增加饲料的风味。EFSA 还核实了根据 EC 第 1831/2003 号法规设立的参比实验室提交的关于饲料中饲料添加剂的分析方法的报告。对谷氨酸棒杆菌 KCCM 80187 发酵产生的味精的评估表明,其符合 EC 第 1831/2003 号法规第 5 条规定的授权条件。因此,应按照本法规附件的规定授权使用该物质,并提供某些条件以便更好地控制。特别是,应在饲料添加剂的标签上注明推荐的含量。如果超过该含量,应在预混料标签上注明某些信息。由谷氨酸棒杆菌 KCCM 80187 发酵产生的味精未被授权用作饮用水的调味剂,但这并不妨碍其用于通过水进行处理的复合饲料。

[信息来源]广东省应对技术性贸易壁垒信息平台.欧盟批准谷氨酸棒杆菌 KCCM 80187 发酵产生的味精作为动物饲料添加剂[EB/OL]. (2022-8-10).http://gdtbt.org.cn/html/note-336600.html.