



不同白化期的‘黄山白茶’代谢物差异分析

周汉琛, 刘亚芹, 雷攀登

引用本文:

周汉琛, 刘亚芹, 雷攀登. 不同白化期的‘黄山白茶’代谢物差异分析[J]. *热带亚热带植物学报*, 2022, 30(2): 187–194.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4461>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

'柿大茶'品系间芳香类物质、儿茶素及游离氨基酸差异分析

Analysis of Aromatics, Catechins and Free Amino Acids in Different Strains of 'Shida Tea'

热带亚热带植物学报. 2018, 26(3): 302–308 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3809>

白茶对弹性蛋白酶活性的抑制研究

Studies on Anti-elastase Activity of White Tea

热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 293–300 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4282>

南瓜5个品种果肉的挥发性成分分析

Volatile Components in Flesh of Five Pumpkin Varieties

热带亚热带植物学报. 2020, 28(6): 633–643 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4226>

43个福建省茶树品种指纹图谱构建及遗传多样性分析

Constructing Fingerprints and Analyzing Genetic Diversity of 43 Tea Cultivars in Fujian Province

热带亚热带植物学报. 2017, 25(6): 579–586 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3743>

油茶砧和茶穗嫁接后苗期叶片形态和次级代谢物含量的变化

Changes in Morphological Characters and Secondary Metabolite Contents in Leaves of Grafting Seedlings with *Camellia sinensis* as Scions and *C. oleifera* as Stocks

热带亚热带植物学报. 2017, 25(1): 35–42 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3641>

向下翻页, 浏览PDF全文

不同白化期的‘黄山白茶’代谢物差异分析

周汉琛, 刘亚芹, 雷攀登*

(安徽省农业科学院茶叶研究所, 安徽黄山 245000)

摘要: ‘黄山白茶 1 号’是温度敏感型白化茶树品种, 由其鲜叶加工的绿茶, 即‘黄山白茶’, 具有清香持久、滋味鲜爽等特征。为探究不同白化时期加工绿茶的香气和滋味差异, 分析了绿茶中挥发性代谢物、儿茶素、咖啡碱和游离氨基酸含量的变化。结果表明, 3 个白化时期的‘黄山白茶’在香气和滋味上存在差异。气相质谱(GC-MS)分析表明, 共有 29 个高丰度挥发性化合物被鉴定; 主成分分析(PCA)显示芳樟醇、顺-己酸-3-己烯酯、香叶醇、顺-3-己烯醇、(Z)-丁酸-3-己烯酯可能是导致 3 类绿茶香气存在差异的标志性化合物。滋味成分分析表明儿茶素类物质在白化早期绿茶中含量最低; 在白化中期绿茶中略有增加但不显著, 而在白化后期绿茶中则显著增加; 咖啡碱在 3 类绿茶中无显著差异; 游离氨基酸在白化早期绿茶中含量最高, 为干质量的 4.4%, 而在白化后期绿茶中只占干质量的 1.3%。因此, 不同时期的‘黄山白茶 1 号’嫩梢中的代谢物积累存在差异, 使得加工的绿茶风味不同。

关键词: 茶树; 白化品种; 黄山白茶; 挥发性化合物; 儿茶素; 游离氨基酸

doi: 10.11926/jtsb.4461

Metabolites Profiling of Green Tea Processed from ‘Huangshanbaicha No. 1’ Cultivar at Different Albino Stages

ZHOU Hanchen, LIU Yaqin, LEI Pandeng*

(Tea research institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Huangshan 245000, Anhui, China)

Abstract: Tea cultivar ‘Huangshanbaicha No. 1’ (HSBC#1) was bred from natural albino mutants of tea plants. The green tea processed from HSBC#1 possess umami, mellow taste and fresh odor. For investigating the metabolite profile of green tea produced from three albino stages (early, middle, and late) of HSBC#1, the main components in tea, such as volatile compounds, catechins, caffeine, and free amino acids, were analyzed. The green teas produced from different stages of HSBC#1 showed the different odor and taste via sensory evaluation. A total of twenty-nine volatiles was identified and quantified. The principal component analysis indicated that the top five differential volatiles were geraniol, (Z)-hexanoic acid, 3-hexenyl ester, linalool, (Z)-3-hexen-1-ol, and (Z)-butanoic acid, 3-hexenyl ester, approximately contributing to the differences in aroma among green teas. Catechins were lower concentrated in early-stage green tea, but their concentrations increased significantly in late-stage green tea. The amount of caffeine had no difference in three types of green tea. The total content of free amino acids in early-stage green tea accounted for about 4% of dry weight, while that in late-stage green tea only for 1.3% of dry weight. Therefore, the differences in metabolites among tender shoots of HSBC#1 at different albino stages lead to the difference in the flavor of green tea products.

Key words: *Camelia sinensis*; Albino tea cultivar; Huangshanbaicha; Volatile compound; Catechin; Free amino acid

收稿日期: 2021-06-08

接受日期: 2021-08-25

基金项目: 黄山市科技计划项目(2018KN-03); 安徽省农业科学院创新团队项目(2021YL036)资助

This work was supported by the Project of Science and Technology in Huangshan (Grant No. 2018KN-03), and the Project for Innovation Team of Anhui Academy of Agricultural Sciences (Grant No. 2021YL036).

作者简介: 周汉琛(1989~), 女, 博士, 研究方向为茶树生物化学及分子生物学。E-mail: Tuesday1011@163.com

* 通信作者 Corresponding Author. E-mail: lpteagle@126.com

白化茶树品种是我国重要的特异种质资源, 因对气候因子敏感不同, 可以分为温度敏感型和光照敏感型^[1]。茶树是高度杂合物种, 不同品种间的遗传背景差异较大, 其内源代谢产物也有差异^[2-5]。白化茶树品种作为变异品种, 其内源代谢和代谢物积累显著有别于正常叶色品种^[5], 其中内源儿茶素类物质在白化茶树品种中的积累普遍较低, 这与其合成代谢途径中关键酶基因的表达调控密切相关^[6]。白化茶树品种叶片中一般含有较高含量的游离氨基酸, 因此由白化茶树品种鲜叶加工的绿茶, 多酚类物质含量低但氨基酸含量高, 使得茶汤滋味鲜爽苦涩味低, 我国重要的名优绿茶‘安吉白茶’, 以其口感鲜爽著称。Chen 等^[7]的研究表明, 茶树在遮阴状态下, 叶片黄化, 内源叶绿体蛋白酶显著积累, 导致叶绿体蛋白水解, 使得叶片中的游离氨基酸含量显著上升。此外, Liu 等^[8]对特异茶树品种‘郁金香’的研究表明, 叶绿体在黄化叶片中较小或发育不完整。白化茶树品种在白化期叶片多呈现白色、玉白色或黄白色, 其叶绿体发育或受到抑制。

挥发性代谢物是组成绿茶香气的重要成分, 尤其是萜烯类化合物, 阈值低且普遍具有花果香, 对绿茶的香气品质形成具有重要作用。香叶醇、芳樟醇等单萜类物质是绿茶香气的重要贡献者, 其合成酶基因主要定位于质体, 而白化茶树品种中的叶绿体发育不健全, 这可能导致白化品种茶树中萜类物质代谢发生改变^[8-10]。Yang 等^[11]的研究表明, 经 98% 黑暗处理后, 茶树叶片黄化, 苯丙烷类及苯环类香气化合物含量显著上升, 而萜类代谢物质含量在长时间处理后反而持续降低。不同白化茶树品种绿茶因品种差异会使得其特征香气代谢物有差异, 如‘中黄 1 号’绿茶具有明显的熟玉米香, 主要来自二甲基硫醚(dimethyl sulfide)的贡献^[12], 而‘正安白茶’绿茶含量较高的挥发性成分为 1-戊烯-3-醇、1-辛烯-3-醇、3-甲基丁醛及 2-甲基丁醛等, 是其香气的重要组成成分^[13]。

‘黄山白茶 1 号’(*Camellia sinensis* var. *sinensis* ‘Huangshanbaicha No. 1’, HSBC#1) 是黄山茶树群体中的 1 个茶树变种, 后经过品种选育而成^[14]。‘黄山白茶 1 号’是温度敏感型白化茶树品种, 在春季低温时期白化特征较为明显(图 1), 叶片呈现白色或玉白色, 由其加工而成的绿茶氨基酸含量比‘安吉白茶’绿茶(4.2%~7.4%)高, 达 4.8%~8.0%, 且茶多酚、咖啡碱含量较低, 使得茶汤滋味鲜爽, 苦涩味较

弱^[14]。随着春季温度升高, ‘黄山白茶 1 号’叶色开始转变, 由白色-黄白色-黄色-黄绿色逐渐变化。本研究分析了‘黄山白茶 1 号’在不同白化期加工绿茶的滋味成分及香气成分的变化, 旨在探究该类白化茶树品种绿茶在不同白化期中的主要生化成分变化, 以期后续研究白化茶树品种绿茶品质形成的机理研究提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

所用试剂癸酸乙酯、正构烷烃化合物、儿茶素及咖啡碱标准品均购置于 Sigma 公司, 游离氨基酸分析标准品购置于德国 SYKAM 公司。

供试茶树品种为‘黄山白茶 1 号’(‘Huangshanbaicha No. 1’, HSBC#1), 种植于黄山甘白香公司茶树培育基地(29°56′13.44″ N, 118°24′17.59″ E), 栽培管理相对一致。

1.2 表型观测和绿茶加工

于 2020 年 3 月底至 5 月初间断对‘黄山白茶 1 号’新生嫩芽颜色进行拍照, 记录当日温度变化情况。分别于 4 月 7 日(叶色白化较重)、4 月 24 日(叶色白化较轻)和 5 月 6 日(叶色有返绿)采摘一芽一叶鲜叶, 采收后在室内摊放 2 h 后杀青, 杀青温度为 200 °C~250 °C, 杀青后室内摊凉 3~5 min 进行初烘, 初烘温度为 100 °C~110 °C, 约 10~15 min, 复烘温度 80 °C~90 °C, 约 30 min。绿茶样品置于-40 °C 冰箱储藏备用。

1.3 感官审评

参照国家茶叶感官审评标准 GB/T 23776—2018 进行感官审评, 准确称取 3.0 g 绿茶样品, 加入 150 mL 沸水冲泡 4 min, 滤出茶汤, 由 3 名专业审茶员主要对茶汤香气及滋味进行描述。

1.4 挥发性物质提取和分析

挥发性化合物提取参照 Wang 等^[15]的方法并略有改动。准确称取 0.2 g 绿茶粉末于 20 mL 萃取瓶中, 加入 5 mL 沸水, 于 70 °C 水浴平衡 5 min, 利用 65 μmol/L PDMS/DVB SPME 萃取头(Supelco, Bellefonte PA)于 70 °C 下吸附 30 min 用于 GC-MS 分析。其中, 吸附过程中加入 10 μL 0.01% 癸酸乙酯

为内标化合物。

参照 Han 等^[16]的方法, 采用气相质谱联用仪 Agilent 7697A-7890A 分析挥发性物质, 气相色谱柱为 DB-5 (30 m×0.25 mm×0.25 μm; Agilent)。GC 程序: 气相不分流, 流速为 1.0 mL/min, 载气为氦气, 色谱柱升温程序为: 初始温度 50 °C, 保持 1 min; 以 10 °C/min 速率上升到 100 °C, 并保持 1 min; 然后以 4 °C/min 速率上升到 200 °C, 并保持 1 min; 以 16 °C/min 上升到 280 °C, 并保持 7 min。

依据 NIST (National Institute of Standards and Technology) 数据库和保留指数 (retention index, RI) 进行化合物鉴定。挥发性化合物含量根据化合物峰面积与内标峰面积之比计算, 以百分数 (%) 表示。

1.5 儿茶素、咖啡碱的提取和测定

绿茶样于研磨机中粉碎, 准确称取 1.0 g 茶粉, 分 3 次加入 30 mL 沸水并于 90 °C 水浴中震荡 5 min, 过滤茶汤后定容至 100 mL。将茶汤稀释 400 倍后用 0.22 μm 微孔水系滤膜过滤, 用日本岛津公司 2010A 液相色谱仪测定儿茶素及咖啡碱含量, 柱温 40 °C, 流动相 A 为 1% 乙酸溶液, 流动相 B 为乙腈, 流速 1.0 mL/min。梯度洗脱条件为 B 相在 0~20 min 由 10% 线性变化至 13%, 20~40 min 由 13% 线性变化至 30%, 40~41 min 由 30% 线性变化至 10%。以标准品绘制标准曲线, 计算儿茶素及咖啡碱含量。每个样品重复 3 次。

1.6 游离氨基酸的测定

游离氨基酸提取方法同上, 稀释 200 倍。用德

国 SYKAM 433D 氨基酸分析仪测定游离氨基酸含量。色谱柱为 LCA K07/Li, 柱温为 38 °C~74 °C 梯度升温; 流动相 A 为 pH2.9 柠檬酸锂溶液, 流动相 B 为 pH 4.2 柠檬酸锂溶液, 流动相 C 为 pH 8.0 柠檬酸锂溶液; 洗脱泵流速为 0.45 mL/min, 衍生泵流速为 0.25 mL/min, 进样体积 10 μL。以标准品响应面积计算游离氨基酸含量。每个样品重复 3 次。

1.7 数据处理

利用 SPSS 19.0 软件进行 ANOVA 计算, 采用 Duncan (D) 方差分析法对不同绿茶样品中代谢物含量差异进行分析 ($P < 0.05$); 采用 SMICA.P 软件对茶叶样品中化合物进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)。

2 结果和分析

2.1 白化表型和风味

‘黄山白茶 1 号’为温度敏感型白化茶树品种, 在白化前期, 环境温度为 18 °C~20 °C, 叶片白化程度较重, 呈现玉白色; 在白化中期, 环境温度为 20 °C~23 °C, 叶片呈现黄白色, 白化现象有所减轻; 在白化后期, 环境温度达 23 °C 以上, ‘黄山白茶 1 号’叶片逐渐呈现黄色, 有返绿现象 (图 1)。感官审评结果表明, 3 个时期绿茶香气类型均为清香型, 但白化前期和中期绿茶香气清香的持久度和强度高于白化后期; 滋味评价表明, 白化前期绿茶的鲜爽度较高, 而醇厚度低于中期和后期, 此外白化前期和中期的绿茶茶汤有回甘, 而后期则没有。



图 1 ‘黄山白茶 1 号’不同白化时期表型

Fig. 1 Phenotype of ‘Huangshanbaicha No. 1’ at different albino stages

2.2 挥发性成分鉴定

通过 NIST 数据库检索和保留指数比对, 3 类绿茶样品中共鉴定出 29 个高丰度挥发性成分 (表 1)。

其中, 有 13 个挥发性成分相对含量在 3 类绿茶样品中无显著差异 ($P > 0.05$), 分别是己醛、庚醛、芳樟醇氧化物 I 和 II、壬醛、苯乙醇、环氧芳樟醇、

十二烷、癸醛、2-甲基丁酸-顺-3-己烯酯、香叶醛、吲哚以及橙花叔醇,其余 16 个挥发性成分丰度在 3 类绿茶样品中存在显著差异($P < 0.05$),尤其是顺-3-己烯醇、芳樟醇、香叶醇、顺-己酸-3-己烯酯 4 个化合物在 3 类绿茶中的相对含量差异较大。

2.3 挥发性成分的差异分析

以挥发性成分相对含量为变量,利用 SIMCA 软件进行主成分分析,结果表明,白化前期‘黄山白茶 1 号’的挥发性成分与另外两个时期有显著差异(图 2: A),且白化中期与白化后期的也有一定差异,而导致差异的标志性化合物主要是芳樟醇(C₁₁)、香叶醇(C₂₁)、(Z)-丁酸-3-己烯酯(C₁₅)、顺-3-己烯醇(C₄)、

顺-己酸-3-己烯酯(C₂₄)等(图 2: B)。芳樟醇在白化前期的相对含量为(22.918 ± 3.296)%,随着叶色转变其相对含量显著下降,白化后期下降为(7.206 ± 1.790)%。

通过正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discrimination analysis, OPLS-DA)法对差异化合物进行分析,以 VIP > 1 且 $P < 0.05$ 筛选差异化合物,结果表明,白化前期与中期绿茶的差异化合物有顺-己酸-3-己烯酯(VIP = 2.44)、芳樟醇(1.95)、顺-3-己烯醇(1.75)、香叶醇(1.38)、(Z)-丁酸-3-己烯酯(1.28)、水杨酸甲酯(1.16)和 2-甲基丁酸-顺-3-己烯酯(1.00)等 7 个化合物。除水杨酸甲酯在白化中期‘黄山白茶’中的相对含量上升外,其余 6

表 1 ‘黄山白茶’绿茶中挥发性化合物的鉴定

Table 1 Identification of volatile compounds in three albino stages of ‘Huangshanbaicha’ green tea

序号 No.	保留时间 Retention time	保留指数 Retention index	化合物 Compound	相对含量 Relative content / %		
				前期 Early stage	中期 Middle stage	后期 Late stage
C1	3.412	796	己醛 Hexanal	1.062 ± 0.162a	1.032 ± 0.305a	1.162 ± 0.104a
C2	4.886	896	庚醛 Heptanal	1.206 ± 0.055a	1.363 ± 0.654a	1.017 ± 0.002a
C3	5.911	976	苯甲醛 Benzaldehyde	0.001 ± 0.000b	0.674 ± 0.429a	0.727 ± 0.140a
C4	6.559	1 025	顺-3-己烯醇 <i>cis</i> -3-Hexen-1-ol	7.798 ± 2.818a	1.602 ± 0.550b	0.991 ± 0.282b
C5	7.128	1 048	柠檬烯 D-Limonene	0.297 ± 0.084b	0.284 ± 0.090b	0.579 ± 0.081a
C6	7.168	1 050	苯甲醇 Benzyl alcohol	0.451 ± 0.020b	2.819 ± 1.652a	0.001 ± 0.000c
C7	7.389	1 059	苯乙醛 Benzeneacetaldehyde	0.001 ± 0.000b	0.001 ± 0.000b	0.751 ± 0.105a
C8	7.893	1 080	1-辛醇 1-Octanol	1.557 ± 0.362a	2.059 ± 1.120a	0.001 ± 0.000b
C9	7.976	1 083	芳樟醇氧化物 I <i>cis</i> -Linalool oxide	0.801 ± 0.327a	1.338 ± 0.806a	1.226 ± 0.505a
C10	8.328	1 097	芳樟醇氧化物 II <i>trans</i> -Linalool oxide	1.151 ± 0.020a	1.440 ± 0.711a	1.028 ± 0.403a
C11	8.584	1 108	芳樟醇 Linalool	22.918 ± 3.296a	15.120 ± 8.031ab	7.206 ± 1.790b
C12	8.693	1 112	壬醛 Nonanal	8.355 ± 1.390a	9.740 ± 3.473a	8.268 ± 1.540a
C13	8.906	1 121	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	1.573 ± 0.122a	2.144 ± 0.878a	1.432 ± 0.194a
C14	10.457	1 186	环氧芳樟醇 Epoxy linalool	0.959 ± 0.189a	1.484 ± 0.590a	1.104 ± 0.316a
C15	10.696	1 195	(Z)-丁酸-3-己烯酯 (Z)-Butanoic acid, 3-hexenyl ester	4.800 ± 1.308a	1.521 ± 0.640b	0.866 ± 0.210b
C16	10.970	1 205	水杨酸甲酯 Methyl salicylate	1.252 ± 0.059b	3.921 ± 3.794a	0.001 ± 0.000c
C17	11.048	1 207	α -萜品醇 α -Terpineol	0.001 ± 0.000b	0.001 ± 0.000b	0.499 ± 0.107a
C18	11.148	1 211	十二烷 Dodecane	1.058 ± 0.028a	1.332 ± 0.603a	0.786 ± 0.121a
C19	11.279	1 216	癸醛 Decanal	1.137 ± 0.385a	1.352 ± 0.294a	1.610 ± 0.629a
C20	11.939	1 240	2-甲基丁酸-顺-3-己烯酯 <i>cis</i> -3-Hexenyl-2-methyl butyrate	1.937 ± 0.393a	0.702 ± 0.102a	0.902 ± 0.001a
C21	12.491	1 262	香叶醇 Geraniol	10.299 ± 3.517a	6.443 ± 3.170a	1.336 ± 0.526b
C22	12.997	1 279	香叶醛 Citral	0.001 ± 0.000a	0.001 ± 0.000a	0.001 ± 0.000a
C23	13.721	1 304	吲哚 Indole	0.639 ± 0.107a	1.646 ± 0.851a	1.153 ± 0.488a
C24	16.290	1 393	顺-己酸-3-己烯酯 <i>cis</i> -Hexanoic acid, 3-hexenyl ester	15.937 ± 6.852a	3.749 ± 2.550b	3.572 ± 1.600b
C25	16.403	1 397	(Z)-己-3-烯醇(Z)-己-3-烯酸酯 <i>cis</i> -3-Hexenyl <i>cis</i> -3-hexenoate	1.231 ± 0.818a	0.001 ± 0.000b	0.001 ± 0.000b
C26	16.546	1 402	反-2-己烯己酸酯 <i>trans</i> -2-Hexenyl caproate	1.755 ± 0.866a	0.001 ± 0.000c	0.352 ± 0.071b
C27	18.293	1 462	香叶基丙酮 Geranylacetone	0.001 ± 0.000b	0.301 ± 0.071a	0.792 ± 0.399a
C28	19.228	1 494	反式- β -紫罗兰酮 <i>trans</i> - β -Ionone	0.315 ± 0.048b	0.559 ± 0.161b	2.105 ± 1.012a
C29	21.613	1 578	橙花叔醇 Nerolidol	1.015 ± 0.269a	0.685 ± 0.288a	0.665 ± 0.353a

同行数据后不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Data followed different letters indicate significant difference at 0.05 level.

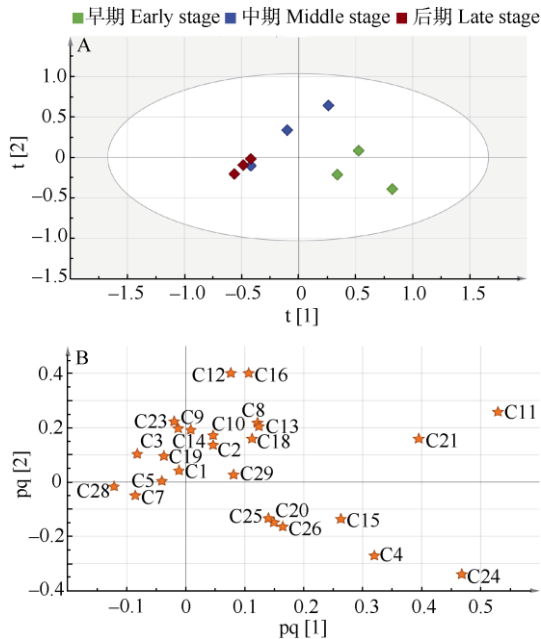


图2 不同白化期‘黄山白茶’绿茶挥发性成分 PCA 分析。A: PCA; B: 差异代谢物。

Fig. 2 Principle component analysis of volatiles in three albino stages of ‘HSBC’ green tea. A: PCA; B: Differential metabolites.

个化合物相对含量均呈现下降趋势(表 1)。从白化前期和后期‘黄山白茶’挥发性组分中筛选到 5 个差异化合物, 分别是芳樟醇(2.45)、顺-己酸-3-己烯酯(2.17)、香叶醇(1.85)、顺-3-己烯醇(1.61)、(Z)-丁酸-3-己烯酯(1.22)。

2.4 滋味成分分析

滋味成分分析结果表明, 与鲜味相关的化合物没食子酸(GA)在白化中期绿茶中的含量最高($P < 0.05$); 儿茶素类物质具有收敛性, 与茶汤涩味、收敛性相关, 其含量随白化程度减轻而增加, 其中简单型儿茶素类物质总量在白化前期和中期的变化不显著($P > 0.05$), 而白化后期的儿茶素类物质总量显著上升($P < 0.05$)(表 2); 酯型儿茶素类物质 EGCG、GCG、ECG、CG 的变化趋势与简单型儿茶素类化合物相同, 在白化后期绿茶中的含量显著增加($P < 0.05$); 咖啡碱含量在 3 类绿茶中的变化不大, 无显著差异。

游离氨基酸含量随白化程度减轻呈现下降趋势(表 2), 其中茶氨酸含量变化最为显著, 在白化前期含量达干质量的 4.4%, 而后期降到 1.3%。与鲜味相关的游离氨基酸天冬氨酸和谷氨酸在白化前期和中期绿茶中变化并不显著($P > 0.05$), 而在白化后期含量显著下降($P < 0.05$); 与甜味相关的游离氨

基酸在白化前期的含量较高, 在白化后期较低; 与苦味相关的游离氨基酸在白化前期含量较高。PCA 分析结果表明, 儿茶素类物质含量在白化后期才出现剧烈变化(图 3: A), 而游离氨基酸含量在 3 类绿茶中的变化较大(图 3: B)。

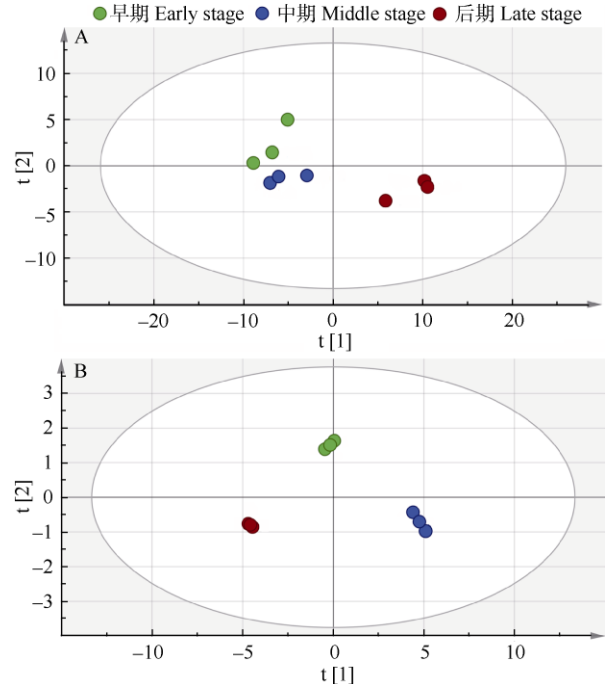


图3 不同白化期‘黄山白茶’绿茶中儿茶素类物质和游离氨基酸的 PCA 分析。A: 儿茶素类物质; B: 游离氨基酸。

Fig. 3 Principal component analysis of catechins and free amino acids at three albino stages of ‘HSBC’ green tea. A: Catechin; B: Free amino acid.

3 结论和讨论

3.1 挥发性成分的变化

本研究通过 HS-SPME-GC-MS 对‘黄山白茶’中的主要挥发性成分进行了鉴定分析, 结果表明, 共有 29 个高丰度化合物被鉴定, 且主要是绿茶中的香气组分^[17]。PCA 分析结果表明返绿后的‘黄山白茶’显著有别于白化时期的绿茶, 且主要差异成分是芳樟醇、香叶醇、(Z)-己酸-3-己烯酯、顺-3-己烯醇和(Z)-丁酸-3-己烯酯等, 推测这些挥发性成分的不同是导致绿茶香气审评差异的因素。在本研究中, 同一发育状态下(一芽一叶), 叶片返绿‘黄山白茶’中的芳樟醇及香叶醇含量显著低于叶片白化时期的绿茶, 推测环境温度的改变, 使得叶片转绿进程中, 内源萜类合成途径受到调控, 进而影响了萜类物质的生物合成。近期即有研究表明低温处理下,

表 2 不同白化期‘黄山白茶’绿茶滋味成分含量(mg/g)

Table 2 Contents (mg/g) of flavor compounds in ‘HSBC’ green tea

化合物 Compound	前期 Early stage	中期 Middle stage	后期 Lately stage	滋味特征 Character of flavor
没食子酸 GA	0.946 ±0.024b	1.235 ±0.199a	0.928 ±0.016b	鲜味 Umami
没食子儿茶素 GC	2.291 ±0.120b	3.219 ±0.476a	3.090 ±0.166a	涩味 Astringency
表没食子儿茶素 EGC	17.244 ±2.548b	18.288 ±3.970b	31.583 ±1.783a	
儿茶素 C	14.679 ±0.862a	19.275 ±3.823a	15.030 ±0.886a	
表儿茶素 EC	7.249 ±0.775b	6.212 ±0.782b	12.509 ±0.770a	
儿茶素总量 Total	42.412 ±4.305b	48.232 ±8.986b	63.142 ±3.290a	
表没食子儿茶素没食子酸酯 EGCG	35.881 ±1.269b	38.596 ±7.393b	45.409 ±2.361a	涩味, 收敛性强 Strong stringency
没食子儿茶素没食子酸酯 GCG	4.023 ±0.125b	3.923 ±0.619b	5.218 ±0.500a	
表儿茶素没食子酸酯 ECG	15.415 ±0.482b	17.158 ±3.344ab	19.673 ±1.001a	
儿茶素没食子酸酯 CG	1.430 ±0.027ab	1.314 ±0.207b	1.680 ±0.144a	
酯型儿茶素总量 Total	56.750 ±1.901b	60.993 ±11.558ab	71.980 ±3.927a	
咖啡碱 Caffeine	22.509 ±0.115a	21.042 ±2.977a	22.777 ±0.781a	苦味 Bitterness
天冬氨酸 Asp	2.801 ±0.115a	2.870 ±0.081a	1.379 ±0.005b	鲜味 Umami
脯氨酸 Phe	0.243 ±0.008a	0.244 ±0.006a	0.233 ±0.010a	
谷氨酸 Glu	3.806 ±0.114a	4.001 ±0.148a	1.808 ±0.064b	
茶氨酸 Theanine	44.787 ±1.770a	26.348 ±0.487b	13.516 ±0.587c	
苏氨酸 Thr	0.373 ±0.004a	0.271 ±0.004c	0.304 ±0.002b	甜味 Sweetness
丝氨酸 Ser	0.912 ±0.015a	0.923 ±0.026a	0.385 ±0.004b	
甘氨酸 Gly	0.242 ±0.005a	0.197 ±0.011b	0.101 ±0.001c	
丙氨酸 Ala	0.408 ±0.004b	0.483 ±0.014a	0.164 ±0.002c	
缬氨酸 Val	0.194 ±0.001a	0.175 ±0.003a	0.125 ±0.003b	苦味 Bitterness
异亮氨酸 Ile	0.130 ±0.004a	0.130 ±0.004a	0.109 ±0.016b	
亮氨酸 Leu	0.255 ±0.009a	0.166 ±0.010b	0.169 ±0.015b	
酪氨酸 Tyr	0.360 ±0.033a	0.289 ±0.009b	0.301 ±0.003b	
组氨酸 His	0.316 ±0.029a	0.112 ±0.014b	0.126 ±0.012b	
赖氨酸 Lys	0.219 ±0.005a	0.160 ±0.001b	0.104 ±0.004c	
精氨酸 Arg	3.257 ±0.144a	2.050 ±0.377b	0.564 ±0.040c	
游离氨基酸总量 Total	58.311 ±1.949a	38.525 ±1.198b	19.394 ±0.623c	

同行数据后不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Data followed different letters indicate significant difference at 0.05 level.

茶树质体中的萜类合成 MEP (methylerythritol 4-phosphate)途径受到调控, 使得萜类合成相关基因, 如 *CsDXS1*、*CsPSY1*、*CsCHXB1* 等显著上调表达^[18]。

此外, 本研究中, 醛类化合物, 如己醛、庚醛、芳壬醛、癸醛等在不同白化时期绿茶中的丰度差异较小。已知醛类化合物多来源于脂肪酸类物质的裂解, 在茶叶加工过程中脂类化合物可氧化裂解产生多种挥发性成分, 包括醛类、酸类、酮类等^[19]。脂肪酸合成途径在植物中较为复杂, 涉及多条合成途径^[20]。基于脂类物质在茶叶中较为丰富, 约占干质量的 2%^[21], 推测醛类物质的生成与茶叶加工过程密切相关。本研究中的绿茶加工过程相对一致, 这可能是醛类化合物含量差异不显著的原因。

3.2 滋味成分的变化

对‘正安白茶’的研究表明, 儿茶素类物质相对含量在白化期呈现上升趋势, 尤其在复绿期含量显著增加; 游离氨基酸则以白化期的含量最高^[22]。在本研究中, 白化早期‘黄山白茶’中的游离氨基酸总量显著高于白化中期和晚期, 而儿茶素类物质含量则显著低于白化晚期, 这与‘正安白茶’^[22]的研究结果一致。在白化早期‘黄山白茶’中游离氨基酸总量达干质量的 4%, 而此时儿茶素类物质, 主要负责茶汤收敛性的物质含量相对较低, 使得茶汤鲜爽而醇厚程度稍欠; 白化中期‘黄山白茶’儿茶素类物质含量增加使得茶汤醇厚程度增加。此外, 白化早期和中期绿茶茶汤滋味有回甘, 而白化后期绿茶则没有, 表明茶汤甜醇度与槲皮素-3-O-芸香糖苷、 γ -氨基丁酸和咖啡碱有显著相关性^[23]。另有研究表明, 类黄

酮糖苷物质的增加可使得茶汤回甘度降低^[24], 后期研究中可通过分析该类物质的差异, 深入研究影响不同白化期绿茶风味改变的关键化合物。

‘黄山白茶 1 号’为温度敏感型白化茶树品种, 随着温度上升叶色逐渐返绿。Feng 等^[5]的研究表明, 相同时期正常叶色茶树品种‘福鼎大白’中的儿茶素类物质总量显著高于‘安吉白茶’、‘郁金香’、‘天台黄茶’等白化、黄化特异茶树品种, 这表明茶树正常叶色叶片利于积累较多的儿茶素类物质。转录因子 *CsbHLH* 和 *CsMYBs* 等参与调控了类黄酮生物合成代谢途径关键酶基因的表达变化^[25]。近期研究表明茶树 *CsTCP* 转录因子参与调控花青素合成酶 ANS 和花青素还原酶 ANR 基因的表达, 影响了茶树嫩梢中儿茶素类物质的积累^[26]。此外, 低温、弱光使得茶树叶片中的儿茶素类物质积累显著降低, 而显著促进游离氨基酸等物质的积累^[25]。本研究中, 白化时期的‘黄山白茶’积累更多的游离氨基酸。有研究表明^[11,27-29], 白化、黄化茶树叶片中易积累更多的游离氨基酸, 这与叶绿体蛋白水解及茶氨酸合成酶的上调表达有关。

综上所述, 白化茶树品种‘黄山白茶 1 号’随温度变化, 叶色发生转变, 内源代谢物的积累产生变化, 如挥发性化合物、儿茶素类物质和游离氨基酸等, 使得鲜叶加工的绿茶风味产生差异。

参考文献

- [1] LIU D D, MEI J F, WANG J Y, et al. Research progress on albino trait of tea plant [J]. *China Tea*, 2020, 42(4): 24–35. doi: 10.3969/j.issn.1000-3150.2020.04.006.
刘丁丁, 梅菊芬, 王君雅, 等. 茶树白化突变研究进展 [J]. *中国茶叶*, 2020, 42(4): 24–35. doi: 10.3969/j.issn.1000-3150.2020.04.006.
- [2] LOU Y H, HE W Z, LIU Y, et al. Comprehensive assessment of quality traits of 14 etiolated and albino tea cultivars [J]. *J Tea*, 2020, 46(2): 84–90. doi: 10.3969/j.issn.0577-8921.2020.02.004.
娄艳华, 何卫中, 刘瑜, 等. 14 个黄化、白化变异茶树品种(系)综合性状评价与分析 [J]. *茶叶*, 2020, 46(2): 84–90. doi: 10.3969/j.issn.0577-8921.2020.02.004.
- [3] WAN Q, HU Y F, LU W Y, et al. Analysis on quality components of albino tea from different areas in Jiangsu [J]. *J S Agric*, 2017, 48(12): 2253–2258. doi: 10.3969/j.issn.2095-1191.2017.12.22.
万青, 胡云飞, 陆文渊, 等. 江苏地区白化茶品质成分比较分析 [J]. *南方农业学报*, 2017, 48(12): 2253–2258. doi: 10.3969/j.issn.2095-1191.2017.12.22.
- [4] MA L L, LIU Y L, CAO D, et al. Analysis and evaluation model for the taste quality of green tea made from various cultivars or strains [J]. *Trans CSAE*, 2020, 36(10): 277–286. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2020.10.034.
马林龙, 刘艳丽, 曹丹, 等. 不同茶树品种(系)的绿茶滋味分析及评价模型构建 [J]. *农业工程学报*, 2020, 36(10): 277–286. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2020.10.034.
- [5] FENG L, GAO M J, HOU R Y, et al. Determination of quality constituents in the young leaves of albino tea cultivars [J]. *Food Chem*, 2014, 155: 98–104. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.01.044.
- [6] XIONG L G, LI J, LI Y H, et al. Dynamic changes in catechin levels and catechin biosynthesis-related gene expression in albino tea plants (*Camellia sinensis* L.) [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2013, 71: 132–143. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.06.019.
- [7] CHEN Y Y, FU X M, MEI X, et al. Proteolysis of chloroplast proteins is responsible for accumulation of free amino acids in dark-treated tea (*Camellia sinensis*) leaves [J]. *J Proteomics*, 2017, 157: 10–17. doi: 10.1016/j.jprot.2017.01.017.
- [8] LIU G F, HAN Z X, FENG L, et al. Metabolic flux redirection and transcriptomic reprogramming in the albino tea cultivar ‘Yu-Jin-Xiang’ with an emphasis on catechin production [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45062. doi: 10.1038/srep45062.
- [9] CHEN F, THOLL D, BOHLMANN J, et al. The family of terpene synthases in plants: A mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom [J]. *Plant J*, 2011, 66(1): 212–229. doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04520.x.
- [10] GUTENSOHN M, ORLOVA I, NGUYEN T T H, et al. Cytosolic monoterpene biosynthesis is supported by plastid-generated geranyl diphosphate substrate in transgenic tomato fruits [J]. *Plant J*, 2013, 75(3): 351–363. doi: 10.1111/tpj.12212.
- [11] YANG Z Y, KOBAYASHI E, KATSUNO T, et al. Characterisation of volatile and non-volatile metabolites in etiolated leaves of tea (*Camellia sinensis*) plants in the dark [J]. *Food Chem*, 2012, 135(4): 2268–2276. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.07.066.
- [12] LIAO X N, YAN J N, WANG B, et al. Identification of key odorants responsible for cooked corn-like aroma of green teas made by tea cultivar ‘Zhonghuang 1’ [J]. *Food Res Int*, 2020, 136: 109355. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109355.
- [13] SHEN Q, ZHANG X Q, LIU X X, et al. Aroma components analysis of Zheng’an white tea in different stages of whitening process [J]. *Food Sci Technol*, 2021, 46(3): 276–282. doi: 10.13684/j.cnki.spkj.2021.03.044.
沈强, 张小琴, 刘晓霞, 等. 不同阶段性返白过程正安白茶香气成分分析 [J]. *食品科技*, 2021, 46(3): 276–282. doi: 10.13684/j.cnki.

- spkj.2021.03.044.
- [14] SHEN Z G, JIANG W H, FANG S H. Current situation and countermeasure of development of Huangshan white tea industry in Shexian County, Anhui Province [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2013, 29(26): 36–40. doi: 10.3969/j.issn.1000-6850.2013.26.008.
沈周高, 江稳华, 方世辉. 安徽歙县黄山白茶产业发展现状及对策思考 [J]. *中国农学通报*, 2013, 29(26): 36–40. doi: 10.3969/j.issn.1000-6850.2013.26.008.
- [15] WANG C, ZHANG C X, KONG Y W, et al. A comparative study of volatile components in Dianhong teas from fresh leaves of four tea cultivars by using chromatography-mass spectrometry, multivariate data analysis, and descriptive sensory analysis [J]. *Food Res Int*, 2017, 100: 267–275. doi: 10.1016/j.foodres.2017.07.013.
- [16] HAN Z X, RANA M M, LIU G F, et al. Green tea flavour determinants and their changes over manufacturing processes [J]. *Food Chem*, 2016, 212: 739–748. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.06.049.
- [17] WANG M Q, MA W J, SHI J, et al. Characterization of the key aroma compounds in Longjing tea using stir bar sorptive extraction (SBSE) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), gas chromatography-olfactometry (GC-O), odor activity value (OAV), and aroma recombination [J]. *Food Res Int*, 2020, 130: 108908. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108908.
- [18] YANG Y Z, LI T, TENG R M, et al. Low temperature effects on carotenoids biosynthesis in the leaves of green and albino tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) [J]. *Sci Hort*, 2021, 285: 110164. doi: 10.1016/j.scienta.2021.110164.
- [19] FENG Z H, LI Y F, LI M, et al. Tea aroma formation from six model manufacturing processes [J]. *Food Chem*, 2019, 285: 347–354. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.174.
- [20] MILLAR A A, SMITH M A, KUNST L. All fatty acids are not equal: Discrimination in plant membrane lipids [J]. *Trends Plant Sci*, 2000, 5(3): 95–101. doi: 10.1016/S1360-1385(00)01566-1.
- [21] WAN X C. *Biochemistry of Tea* [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2003: 8–9.
宛晓春. *茶叶生物化学* [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 8–9.
- [22] SHEN Q, ZHANG X Q, XU F F, et al. Changes of odorous substance and taste attributes of the Zheng'an Bai Cha in different times [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2020, 41(24): 31–35. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020030278.
沈强, 张小琴, 许凡凡, 等. 不同时期正安白茶呈味物质变化及滋味评价 [J]. *食品工业科技*, 2020, 41(24): 31–35. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020030278.
- [23] LI J, YAO Y F, WANG J Q, et al. Rutin, γ -aminobutyric acid, gallic acid, and caffeine negatively affect the sweet-mellow taste of Congou black tea infusions [J]. *Molecules*, 2019, 24(23): 4221. doi: 10.3390/molecules24234221.
- [24] ZHANG L, CAO Q Q, GRANATO D, et al. Association between chemistry and taste of tea: A review [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2020, 101: 139–149. doi: 10.1016/j.tifs.2020.05.015.
- [25] ZHU J Y, XU Q S, ZHAO S Q, et al. Comprehensive co-expression analysis provides novel insights into temporal variation of flavonoids in fresh leaves of the tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. *Plant Sci*, 2020, 290: 110306. doi: 10.1016/j.plantsci.2019.110306.
- [26] YU S W, LI P H, ZHAO X C, et al. CsTCPs regulate shoot tip development and catechin biosynthesis in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. *Hort Res*, 2021, 8(1): 104. doi: 10.1038/s41438-021-00538-7.
- [27] ZHANG Q F, SHI Y Z, MA L F, et al. Metabolomic analysis using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS) uncovers the effects of light intensity and temperature under shading treatments on the metabolites in tea [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e112572. doi: 10.1371/journal.pone.0112572.
- [28] LI N N, YANG Y P, YE J H, et al. Effects of sunlight on gene expression and chemical composition of light-sensitive albino tea plant [J]. *Plant Growth Regul*, 2016, 78(2): 253–262. doi: 10.1007/s10725-015-0090-6.
- [29] DENG W W, FEI Y, WANG S, et al. Effect of shade treatment on theanine biosynthesis in *Camellia sinensis* seedlings [J]. *Plant Growth Regul*, 2013, 71(3): 295–299. doi: 10.1007/s10725-013-9828-1.