

方仕茂, 张拓, 杨婷, 等. 基于 HPLC-FLD 靶向分析古茶树游离氨基酸积累特征[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(4): 1070-1077.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2022.04.025

## 基于 HPLC-FLD 靶向分析古茶树游离氨基酸积累特征

方仕茂<sup>1</sup>, 张拓<sup>1</sup>, 杨婷<sup>1</sup>, 田小强<sup>2</sup>, 田洪军<sup>2</sup>, 刘忠英<sup>1</sup>, 潘科<sup>1</sup>

(1. 贵州省农业科学院茶叶研究所, 贵州 贵阳 550006; 2. 沿河土家族自治县生态茶发展和技术指导中心, 贵州 沿河 565300)

**摘要:** 游离氨基酸是贡献茶汤鲜味的主要物质。乔木型和灌木型古茶树茶鲜叶经红茶加工工艺制成的干茶, 其鲜味特征突出, 但目前对古茶树茶鲜叶及制成的干茶中游离氨基酸的积累特征尚不清楚。本研究基于高效液相色谱-荧光检测器(HPLC-FLD)结合化学计量学方法靶向分析乔木型、灌木型古茶树及福鼎大白茶鲜叶和干茶样品中 18 种游离氨基酸含量。结果表明, 茶鲜叶和干茶样品中茶氨酸含量最高, 且在乔木型和灌木型古茶树鲜叶中存在显著差异; 干茶中鲜味氨基酸含量减少, 甜味和苦味氨基酸含量变化不明显。主成分分析结果显示, 茶鲜叶样品游离氨基酸含量聚类明显, 而干茶则呈现重叠或分散特征。不同树型古茶树鲜叶游离氨基酸积累存在差异, 加工可改变游离氨基酸代谢, 促进红茶品质形成。

**关键词:** 古茶树; 红茶; 高效液相色谱-荧光检测器; 游离氨基酸; 鲜甜

**中图分类号:** S571.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)04-1070-08

## Targeted analysis of free amino acid accumulation characteristics of ancient tea trees based on HPLC-FLD

FANG Shi-mao<sup>1</sup>, ZHANG Tuo<sup>1</sup>, YANG Ting<sup>1</sup>, TIAN Xiao-qiang<sup>2</sup>, TIAN Hong-jun<sup>2</sup>, LIU Zhong-ying<sup>1</sup>, PAN Ke<sup>1</sup>

(1. Tea Research Institute, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China; 2. Ecological Tea Development and Technical Guidance Center of Yanhe Tujia Autonomous County, Yanhe 565300, China)

**Abstract:** Free amino acids are the main substances contributing to the umami of tea infusion. Dried tea processed by black tea processing technique, with fresh leaves of ancient tea trees of arbor type and shrub type show outstanding characteristics in umami, but the accumulation characteristics of free amino acid content in the fresh leaves of ancient tea trees and the dried tea are still unclear. In this study, contents of 18 free amino acids in fresh leaves and dried tea samples from ancient tea trees of arbor type, shrub type and Fudingdabai were targeted and analyzed based on high performance liquid chromatography-fluorescence detection (HPLC-FLD) combined with chemometric method. The results showed that, content of theanine was the highest in samples of fresh tea leaves and dried tea leaves, and there were significant differences between the fresh leaves from ancient tea trees of arbor type and shrub type. The content of umami amino acids decreased in dried tea, while the contents of sweet and bitter amino acids varied irregularly. Principal component analysis showed that,

the fresh leaf samples clustered significantly according to free amino acid content, while the dried tea showed overlapping or scattered characteristics. There were differences in the accumulation of free amino acids in fresh leaves of different tree types of ancient tea trees, and processing could change free amino acid metabolism to promote quality formation of black tea.

收稿日期: 2021-12-22

基金项目: 贵州省农业科学院基金项目[黔农科院青年科技基金(2021)29]; 贵州省科技支撑项目[黔科合成果(2021)一般 030、黔科合支撑(2020)1Y146]

作者简介: 方仕茂(1994-), 男, 贵州铜仁人, 硕士, 助理研究员, 研究方向为茶叶加工。(E-mail) fsm12340@163.com

通讯作者: 潘科, (E-mail) panke840215@126.com

**Key words:** ancient tea tree; black tea; high performance liquid chromatography-fluorescence detection (HPLC-FLD); free amino acid; umami and sweet

贵州省沿河县是中国古茶树之乡,存有丰富的乔木型和灌木型古茶树资源<sup>[1]</sup>。根据《贵州省古茶树保护条例》中的定义,沿河县树龄达 100 年以上的原生地天然生长和栽培型古茶树达万余株<sup>[2]</sup>。古茶树是研究茶树驯化起源以及特色茶树种质筛选的重要资源<sup>[3-5]</sup>。古茶树鲜叶试制红茶均呈现出醇和、鲜甜的滋味特征<sup>[6]</sup>,研究结果表明,古茶树红茶甜醇滋味特征与鲜叶中可溶性糖含量高度相关<sup>[7]</sup>。目前对贡献鲜甜味的游离氨基酸在不同类型古茶树鲜叶中的积累特点以及加工对其含量的影响尚不清楚。

茶叶中富含游离氨基酸类物质,目前在茶叶中鉴定出 20 种蛋白质游离氨基酸和 6 种非蛋白质游离氨基酸(如茶氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸等),其中茶氨酸含量占茶叶中游离氨基酸总含量的 60%,其次是谷氨酸、精氨酸、天冬氨酸和丝氨酸<sup>[8]</sup>。研究结果表明,茶氨酸、丝氨酸、甘氨酸和脯氨酸等游离氨基酸是贡献茶汤鲜爽滋味感官特征的主要化合物<sup>[9]</sup>;另一方面,茶叶中游离氨基酸类物质参与茶叶香气的形成<sup>[10-11]</sup>。古茶树由于生长年限较长,其次生代谢与长期受到人工选择的茶树品种不同<sup>[12-13]</sup>。尽管当前大量研究从基因水平解析了茶树高积累儿茶素类、茶氨酸等特征代谢物的分子机制<sup>[14-16]</sup>,但对同一区域乔木型古茶树、灌木型古茶树以及选育品种茶树游离氨基酸代谢差异的研究尚未有报道。

为充分利用古茶树资源,解析古茶树产品甜醇滋味形成的物质基础,本研究利用高效液相色谱结合荧光检测器(High-performance liquid chromatography fluorescence detection, HPLC-FLD)分析不同树型古茶树鲜叶中 18 种游离氨基酸含量,结合化学计量学分析乔木型、灌木型古茶树与品质对照种茶树福鼎大白鲜叶中游离氨基酸的积累差异。另一方面,本研究分析红茶加工工艺对不同树型古茶树中游离氨基酸积累的影响。本研究对古茶树资源利用及古茶树红茶滋味品质形成具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本收集与处理

16 份茶鲜叶及 16 份干茶样于 2020 年 3 月采集

自贵州省沿河县,具体采样信息参见文献[7]。样品包括乔木型鲜叶样品 7 份、灌木型鲜叶样品 7 份和品质对照种福鼎大白样品 2 份,每份包含 3 次生物学重复,每个重复取样 50 g。鲜叶样品称质量后立即用锡箔纸包裹,置入液氮罐中浸没 5 min,随后取出转移至干冰盒内暂存,最后保存于-80 ℃冰箱,待需要检测分析时采用真空冷冻干燥设备将样品进行冻干。古茶树红茶加工工艺依据《贵州红茶工夫红茶加工技术规程(DB 52/T 639)》进行加工制取。冷冻干燥样品和干茶样品均通过恒温研磨机研磨,过 40 目筛后用于游离氨基酸的检测。

### 1.2 仪器与试剂

真空冷冻干燥机(ALPHR 1-4 LD plus,北京博励行仪器有限公司产品),电子分析天平[ME204E/02,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产品],超纯水仪(KL-UP-III-20,成都唐氏康宁科技发展有限公司产品),高效液相色谱仪配备荧光检测器(LC2030C Plus,日本 Shimadzu 公司产品),乙腈和甲醇(美国 Tedia 公司产品)。

### 1.3 游离氨基酸的分离检测

**1.3.1 样品制备和衍生** 称取冷冻干燥的鲜叶样和干茶样 1.500 g 于锥形瓶中,加入 220 ml 沸水并在沸水中浸提 45 min。浸提结束,将浸提液过滤并转移到 250 ml 容量瓶中,冷却至室温并用纯水定容,摇匀。用 2.5 ml 无针注射器抽取定容液,过聚醚砜(PES)膜(孔直径:0.22  $\mu$ m)至 1.5 ml 离心管中,混匀。分别移取 10  $\mu$ l 经 PES 膜过滤的溶液、70  $\mu$ l AccQ·Fluor Buffer1 和 20  $\mu$ l AccQ Fluor 2A(AccQ-Fluor Reagent Kit,美国 Waters 公司产品)于玻璃衬管中,随后将玻璃衬管置于涡旋器上涡旋混合 15 s,涡旋混合液放置在 55 ℃烘箱内加热 10 min 后取出,冷却至室温,用于进样分析。

**1.3.2 HPLC-FLD 定量分析游离氨基酸** 基于 HPLC-FLD 对茶样中 18 种游离氨基酸化合物进行定量分析。色谱柱为 AccQ·Tag<sup>TM</sup>分析柱(60 Å,4  $\mu$ m,3.9 mm×150.0 mm,1/pkg,美国 Waters 公司产品)。流动相 A 为稀释浓缩液(1:10,体积比;AccQ.Tag 洗脱液:水),流动相 B 为纯乙腈,流动相 C 为超纯水,梯度洗脱程序为:0~17 min,100%~91% A,5% B,4%

C;24 min,80% A,17% B,3% C;32 min,68% A,20% B,12% C;34 min,68% A,20% B,12% C;35 min,60% B,40% C;38 min,100% A;45 min,100% A。发射波长 250 nm,检测波长 395 nm。色谱柱流速为 1 ml/min,柱箱温度 25 ℃,进样量 10  $\mu$ l。

**1.3.3 游离氨基酸分析** 将 17 种游离氨基酸(天冬氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸)混合液标准品(美国 Waters 公司产品)和茶氨酸配制成不同梯度浓度样品,采用方法 1.3.1 中的方法进行衍生,制备标准品的分析样。通过绘制摩尔质量浓度( $x$ 轴)与同一保留时间的峰值面积( $y$ 轴)关系曲线,构建 18 个游离氨基酸标准品的标准曲线,获得曲线方程以及相关系数,用于计算样品中各氨基酸的含量。总游离氨基酸含量为上述 18 种游离氨基酸含量之和。

#### 1.4 数据处理

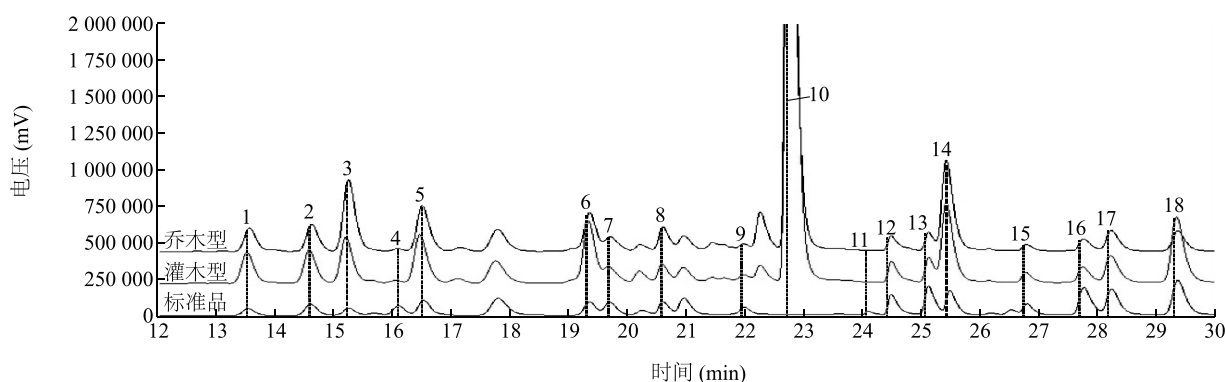
数据统计及分析采用 Excel、IBM SPSS Statis-

tics,作图采用 Origin 2017 64Bit。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同树型古茶树鲜叶游离氨基酸积累差异

采用 HPLC-FLD 方法检测氨基酸具有高特异性、高灵敏度等优点。由图 1 可知,采用 Waters-Ac-cQ 方法可以实现茶叶中 18 种游离氨基酸的良好分离,茶氨酸在不同树型古茶树鲜叶中含量均为最高(10 号峰),含量较低的氨基酸为半胱氨酸(11 号峰)。定量分析结果(表 1)显示,在乔木型、灌木型和福鼎大白品质对照中,鲜叶中茶氨酸的含量分别为  $(7.56 \pm 2.93)$  mg/g、 $(10.75 \pm 3.00)$  mg/g 和  $(13.14 \pm 1.28)$  mg/g,分别占游离氨基酸总量的 45.54%、57.64%和 62.01%,组间含量均值差异显著( $P < 0.05$ )。其次,在 18 种游离氨基酸中丝氨酸、半胱氨酸、精氨酸和赖氨酸含量在 3 个类型茶鲜叶间无显著差异。



1~18 分别表示天冬氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、茶氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸。

图 1 游离氨基酸 HPLC-FLD 检测色谱

Fig.1 Chromatogram of free amino acid detected by HPLC-FLD

茶鲜叶中游离氨基酸含量是决定干茶茶汤鲜爽味品质的关键。根据氨基酸单体化合物的感官呈味特性,可分为甜味氨基酸、苦味氨基酸和鲜味氨基酸<sup>[9]</sup>。表 1 显示,乔木型古茶树、灌木型古茶树及福鼎大白鲜叶中 3 种滋味属性的氨基酸含量存在差异。古茶树茶鲜叶中以鲜味氨基酸为主,苦味氨基酸和甜味氨基酸次之。在 3 种树型古茶树鲜叶中,乔木型古茶树鲜叶甜味氨基酸和鲜味氨基酸含量最低,苦味氨基酸含量最高,灌木型古茶树鲜叶中甜味

氨基酸含量最高,苦味氨基酸含量最低,而福鼎大白鲜叶则含有丰富的鲜味氨基酸。茶鲜叶中鲜味、苦味和甜味氨基酸含量的占比差异,可为鲜叶的适制性提供参考,同时为工艺参数(如干燥温度、发酵时间)的选择提供理论依据。

### 2.2 不同树型古茶树干茶游离氨基酸含量差异

表 2 显示,干茶中游离氨基酸总量最高的是福鼎大白,其次为灌木型古茶树干茶,最低的为乔木型古茶树干茶。古茶树干茶中含量较多的氨基酸分别

是茶氨酸、谷氨酸、丝氨酸、组氨酸。根据滋味的呈味属性,乔木型干茶中甜味、鲜味、苦味氨基酸含量分别占总游离氨基酸含量的 16.32%、58.03%、25.66%;灌木型干茶中甜味、鲜味、苦味氨基酸含量分别占总游离氨基酸含量的 16.61%、62.90%、20.07%;福鼎大白干茶中甜味、鲜味、苦味氨基酸含量分别占总游离氨基酸含量、氨基酸含量的 16.22%、64.79%、18.99%。干茶中甜味、鲜味、苦味 3 类氨基酸含量占比差异可能是影响茶汤品质的潜在原因,感官审评结果表明,古茶树茶汤滋味鲜甜醇厚特征突出,福鼎大白干茶则保留了更多的甜味氨基酸、鲜味氨基酸和较少的苦味氨基酸,体现出甜醇滋味特征。灌木型干茶中甜味氨基酸和鲜味氨基酸含量介于乔木型和福鼎大白干茶之间。

表 1 不同树型古茶树鲜叶游离氨基酸含量

Table 1 Free amino acid content in fresh leaves of ancient tea trees of different types

滋味属性	名称	鲜叶游离氨基酸含量 (mg/g)		
		乔木型	灌木型	福鼎大白
甜味氨基酸	苏氨酸	0.37±0.08a	0.27±0.06b	0.25±0.04b
	丝氨酸	0.68±0.19a	0.61±0.25a	0.59±0.07a
	丙氨酸	0.16±0.03a	0.12±0.03b	0.15±0.03ab
	甲硫氨酸	0.56±0.28b	1.42±0.41a	1.12±0.23a
	半胱氨酸	0.09±0.03a	0.08±0.04a	0.07±0.03a
	脯氨酸	0.03±0.03b	0.12±0.07a	0.10±0.04a
	甘氨酸	0.05±0.05ab	0.04±0.04b	0.08±0.05a
	异亮氨酸	0.06±0.01b	0.13±0.07a	0.04±0.02b
苦味氨基酸	亮氨酸	0.08±0.03b	0.18±0.08a	0.09±0.02b
	缬氨酸	0.05±0.02b	0.13±0.08a	0.05±0.01b
	组氨酸	2.39±0.82a	1.00±0.54b	1.24±0.39b
	精氨酸	0.53±0.31a	0.35±0.31a	0.63±0.37a
	酪氨酸	0.13±0.07b	0.40±0.14a	0.38±0.12ab
	苯丙氨酸	0.07±0.02b	0.15±0.14a	0.06±0.03b
	赖氨酸	0.21±0.10a	0.21±0.09a	0.15±0.06a
	谷氨酸	2.84±0.55a	2.12±0.96b	2.39±0.34ab
鲜味氨基酸	茶氨酸	7.56±2.93b	10.75±3.00a	13.14±1.28a
	天冬氨酸	0.75±0.19a	0.59±0.22b	0.67±0.12ab
	甜味氨基酸	1.93±0.47b	2.65±0.61a	2.35±0.27ab
	苦味氨基酸	3.52±1.07a	2.54±0.67b	2.63±0.73b
	鲜味氨基酸	11.15±3.42b	13.46±4.02a	16.20±1.54a
	总游离氨基酸	16.60 ±4.42b	18.65±4.89ab	21.19±2.09a

同一行数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ); 总游离氨基酸含量为 18 种游离氨基酸含量之和。

表 2 不同树型古茶树干茶游离氨基酸含量

Table 2 Free amino acid content of black tea from ancient tea trees of different types

滋味属性	名称	干茶游离氨基酸含量 (mg/g)		
		乔木型	灌木型	福鼎大白
甜味氨基酸	苏氨酸	0.42±0.24a	0.34±0.11a	0.35±0.08a
	丝氨酸	1.11±0.63a	1.01±0.22a	1.12±0.27a
	丙氨酸	0.17±0.07a	0.18±0.06a	0.22±0.05a
	甲硫氨酸	0.47±0.22b	0.86±0.33a	0.77±0.17a
	半胱氨酸	0.08±0.04a	0.07±0.04a	0.10±0.03a
	脯氨酸	0.26±0.14a	0.30±0.06a	0.24±0.05a
	甘氨酸	0.03±0.02a	0.03±0.03a	0.03±0.02a
	异亮氨酸	0.26±0.16a	0.25±0.07a	0.17±0.06a
苦味氨基酸	亮氨酸	0.36±0.19a	0.35±0.11a	0.29±0.08a
	缬氨酸	0.34±0.22a	0.30±0.07a	0.21±0.08a
	组氨酸	1.39±0.47a	0.84±0.31b	0.97±0.18b
	精氨酸	0.40±0.21b	0.39±0.18b	1.03±0.22a
	酪氨酸	0.40±0.22ab	0.52±0.11a	0.31±0.14b
	苯丙氨酸	0.52±0.32a	0.35±0.16ab	0.17±0.16b
	赖氨酸	0.35±0.18a	0.36±0.10a	0.35±0.08a
	谷氨酸	2.21±0.60a	1.95±0.75a	1.66±0.41a
鲜味氨基酸	茶氨酸	6.28±1.50c	8.04±2.10b	10.09±2.35a
	天冬氨酸	0.58±0.24a	0.54±0.25a	0.19±0.18b
	甜味氨基酸	2.55±0.95a	2.78±0.72a	2.99±0.52a
	苦味氨基酸	4.01±1.64a	3.36±0.86a	3.50±0.81a
	鲜味氨基酸	9.07±2.09b	10.53±2.94ab	11.94±2.72a
	总游离氨基酸	15.63±3.51a	16.74±4.32a	18.43±3.86a

同一行数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ); 总游离氨基酸含量为 18 种游离氨基酸含量之和。

### 2.3 加工对古茶树红茶游离氨基酸含量的影响

茶叶加工影响风味物质的代谢进而形成其独特风味品质。图 2 显示了鲜叶-干茶中总游离氨基酸和茶氨酸含量的方差分析结果。在相同加工工艺条件下,总游离氨基酸含量在鲜叶样中存在一定组间差异,然而总游离氨基酸含量在干茶样品组间差异则不明显 ( $P>0.05$ )。鲜叶中的丝氨酸、半胱氨酸、精氨酸和赖氨酸含量均值无显著差异 ( $P>0.05$ ),干茶中丝氨酸、丙氨酸、半胱氨酸、脯氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、赖氨酸和谷氨酸含量均值无显著差异 ( $P>0.05$ ) (表 2),表明通过红茶加工处理促进了乔木型和灌木型古茶树鲜叶中各氨基酸含量向无差异趋势变化,从



而使风味品质呈现相似性。其次,根据氨基酸滋味属性分类结果,加工处理后甜味氨基酸和苦味氨基酸含量在 3 种类型古茶树干茶中无显著差异。表明加工可改变游离氨基酸含量,从而使得干茶滋味表现出一定稳定性。

干茶加工过程中茶鲜叶中游离氨基酸含量逐渐减少,但对不同滋味属性的氨基酸影响存在差异。由图 2 可知,乔木型和灌木型古茶树鲜叶经加工处理均使鲜味氨基酸(茶氨酸)含量减少,其中对灌木

型古茶树中的茶氨酸含量具有显著影响。加工对甜味氨基酸和苦味氨基酸含量的影响则无规律。对比鲜叶与干茶不同滋味属性氨基酸含量差异可知,对于甜味氨基酸来说,加工未显著改变半胱氨酸、甘氨酸含量,但使得丝氨酸、脯氨酸含量极显著增加;对苦味氨基酸来说,干茶样品中异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸和赖氨酸含量极显著增加,但对精氨酸含量的影响则不显著。

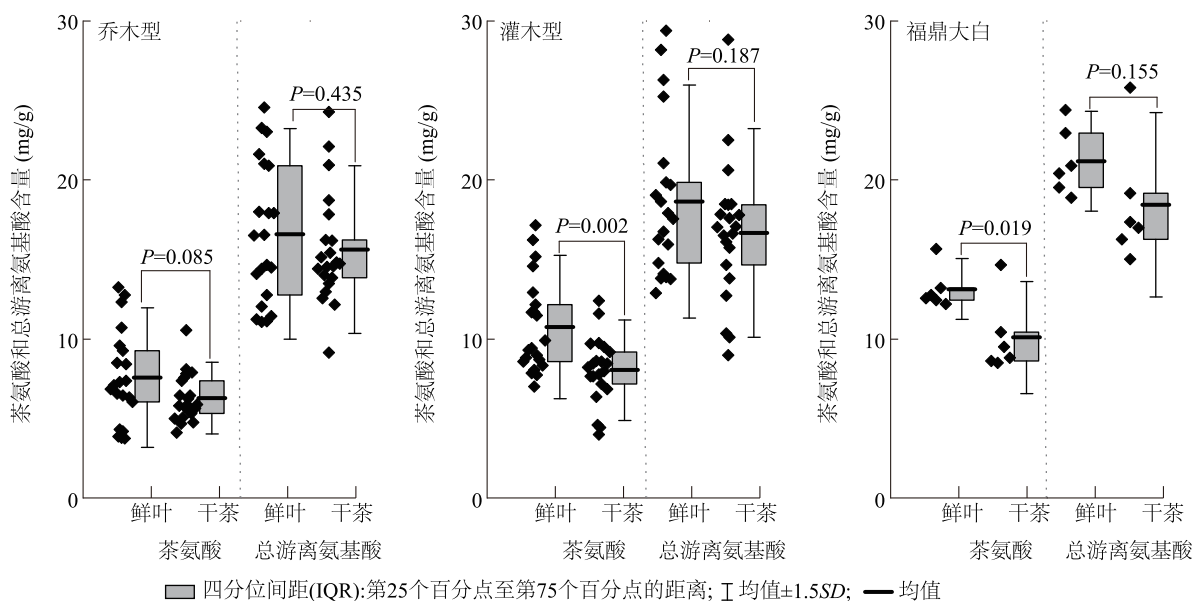


图 2 鲜叶和干茶中茶氨酸和总游离氨基酸含量

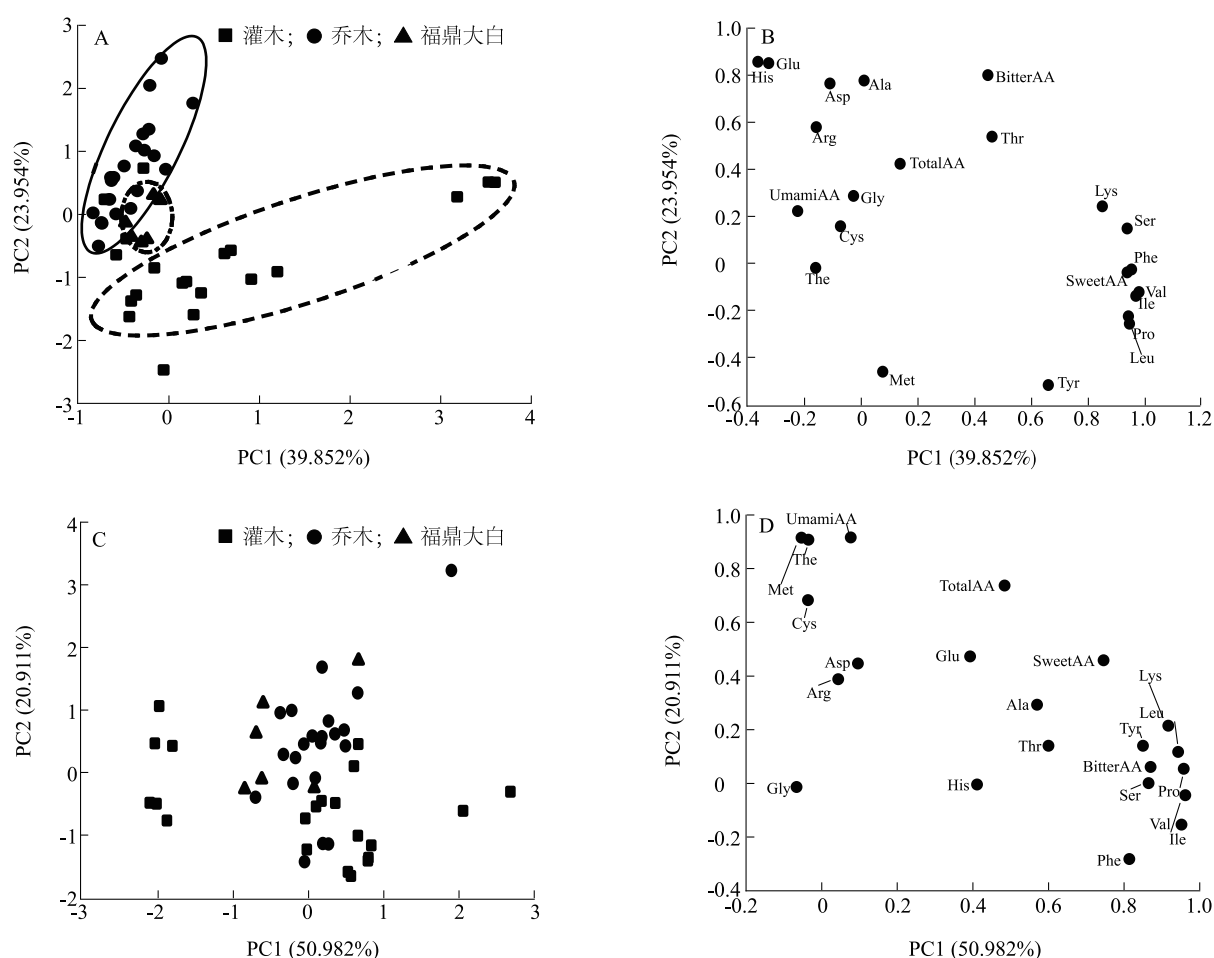
Fig.2 Theanine and total free amino acid contents in fresh and dry tea leaves

为明确乔木型、灌木型和福鼎大白在加工前后,即鲜叶和干茶中游离氨基酸含量的变化差异,以 22 个氨基酸的含量作为变量和鲜叶样品氨基酸含量、干茶样品氨基酸含量构建主成分分析(Principal component analysis, PCA)模型。图 3A 为 3 种类型鲜叶的主成分得分图,主成分 1(PC1)和主成分 2(PC2)的解释方差分别是 39.852%和 23.954%。16 份样品(图中包括每一样品的 3 次技术重复数据)在该二维坐标中得到了较好的聚类,且存在明显的分离界限。图 3B 为前 2 个主成分的载荷得分结果,解释了图 3A 中乔木型、灌木型和福鼎大白鲜叶样品的聚类原因,即由于 3 类鲜叶样品贡献前 2 个主成分的氨基酸含量差异,进一步分析旋转后的分矩阵可知,PC1 的解释方差主要是由缬氨酸、异亮氨酸、甜味氨基酸总量、

亮氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸和酪氨酸贡献,PC2 解释方差则由组氨酸、谷氨酸、苦味氨基酸总量、丙氨酸、天冬氨酸、精氨酸和苏氨酸贡献。图 3C 显示,由于干茶样品经过加工后,样品内游离氨基酸变化趋于一致,导致样品在 PC1 和 PC2 的二维空间重叠,无明显的聚类分离轮廓。其次,灌木型和乔木型古茶树干茶样品相较于福鼎大白干茶样品体现出较为分散的特征。干茶样品主成分分析结果表明,通过图 3D 中前 2 个主成分载荷得分,难以实现样品的聚类(图 3C),即样品在 22 个变量中的整体差异不明显。

### 3 讨论与结论

古茶树生境和园艺措施是影响其茶鲜叶游离氨基酸积累的潜在因素。茶鲜叶中氨基酸、儿茶素等



Asp: 天冬氨酸; Ser: 丝氨酸; Glu, Gly, His, Arg, Thr, Ala, Pro, The, Cys, Tyr, Val, Met, Lys, Ile, Leu, Phe, SweetAA, BitterAA, UmamiAA 和 TotalAA 分别是谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、茶氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、甜味氨基酸、苦味氨基酸、鲜味氨基酸和总游离氨基酸。

图3 鲜叶样品氨基酸含量主成分得分(A)和载荷得分(B)、干茶样品主成分得分(C)和载荷得分(D)

Fig.3 Principal component score plot (A) and loading score plot (B) for amino acid contents in fresh leaves, principal component score plot (C) and loadings score plot for amino acid contents in dry tea

特征代谢物积累受到茶树施肥、采摘和修剪等园艺措施影响<sup>[17-18]</sup>, 本研究发现乔木型古茶树主要以单株形式生长且经历园艺措施影响最小, 主要受采摘影响, 修剪和施肥等管理措施较少, 而灌木型古茶树和福鼎大白茶树受到人工管理影响较为频繁, 因此推测园艺措施影响是导致古茶树鲜叶游离氨基酸积累差异的主要原因。其次, 不同古茶树类群生化成分含量的变异系数较大<sup>[19-21]</sup>, 乔木型古茶树由于单株生长环境等差异, 各单株茶鲜叶游离氨基酸含量存在较大的差异<sup>[22]</sup>。本研究的主成分分析结果亦表明, 3 种类型的茶鲜叶呈现较好的聚类分离特征, 进一步说明生境和园艺措施差异影响了古茶树游离

氨基酸的积累。

加工可以改善茶鲜叶品质差异从而塑造干茶相似品质。萎凋、揉捻和发酵过程中茶鲜叶受到水分、机械损伤等胁迫, 促进蛋白质水解, 有利于氨基酸含量增加。干燥过程, 由于受到温度作用, 游离氨基酸发生降解, 其含量逐渐减少, 使得茶汤鲜甜滋味减弱, 影响茶汤品质。已有研究结果表明, 茶氨酸、苯丙氨酸和甲硫氨酸等氨基酸参与香气的形成且呈现烘烤味和花香<sup>[9]</sup>, 与福鼎大白干茶相比, 古茶树干茶表现出的木香感官特征是值得关注的, 已有研究结果表明, 存放陈化可能是形成红茶木香的潜在因素<sup>[23]</sup>, 而是否有

游离氨基酸参与形成木香尚不清楚。另一方面,古茶树干茶滋味整体呈甜醇味。已有研究结果表明,鲜叶经加工后多糖(蔗糖)水解为单糖(如葡萄糖、果糖)是贡献红茶茶汤甜味的潜在因素<sup>[7]</sup>。其次,灌木型古茶树鲜叶经过加工,总儿茶素含量减少,显著减少苦涩味物质的积累<sup>[8]</sup>。甜味氨基酸和鲜味氨基酸具有协同增强茶汤鲜甜、拮抗苦涩味的作用<sup>[24-25]</sup>,本研究对象福鼎大白干茶中鲜味氨基酸含量占比高于灌木型和乔木型古茶树干茶,结合感官审评结果可推测游离氨基酸亦是贡献茶汤甜醇滋味的重要物质。由于茶汤滋味是茶叶中浸出物质共同作用的结果,目前基本明确各主要物质的滋味属性<sup>[26-27]</sup>,但对于贡献茶汤甜醇滋味的关键化合物仍需要进一步的分子感官试验确定。

综上,采用 HPLC-FLD 方法实现茶鲜叶和干茶中 18 种游离氨基酸的靶向检测。基于主成分分析等化学计量学方法可实现对样品的聚类,不同类型茶鲜叶游离氨基酸含量存在一定差异,通过加工工艺处理可弱化这一含量差异,从而塑造相似的干茶品质。本研究结果增进了对不同树型古茶树鲜叶游离氨基酸积累差异的认识,为不同树型古茶树红茶品质形成提供一定理论依据。

#### 参考文献:

- [1] 温顺位,刘 学,徐代刚,等.铜仁市古茶树资源调查与保护利用研究[J].茶业通报,2014,36(3):102-106.
- [2] 徐嘉民.贵州部分古茶树资源分布概况[J].当代贵州,2019(27):9.
- [3] 张文驹,戎 俊,韦朝领,等.栽培茶树的驯化起源与传播[J].生物多样性,2018,26(4):357-372.
- [4] 陈 亮,杨亚军,虞富莲.中国茶树种质资源研究的主要进展和展望[J].植物遗传资源学报,2004(4):389-392.
- [5] LU L T, CHEN H F, WANG X J, et al. Genome-level diversification of eight ancient tea populations in the Guizhou and Yunnan regions identifies candidate genes for core agronomic traits[J]. Horticulture Research, 2021, 8(1): <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00617-9>.
- [6] 方仕茂,戴宇樵,杨 婷,等.基于多酚类和嘌呤类代谢表的沿河古茶树红茶适制性评估[J].茶叶通讯,2021,48(3):456-461.
- [7] 潘 科,方仕茂,刘忠英,等.基于 GC-MS/MS 分析加工对古茶树红茶可溶性糖含量的影响[J].福建农林大学学报(自然科学版),2021,50(4):490-496.
- [8] 宛晓春,夏 涛.茶树次生代谢[M].北京:科学出版社,2015.
- [9] YU Z M, YANG Z Y. Understanding different regulatory mechanisms of proteinaceous and non-proteinaceous amino acid formation in tea (*Camellia sinensis*) provides new insights into the safe and effective alteration of tea flavor and function[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(5): 844-858.
- [10] GUO X Y, HO C T, SCHWAB W, et al. Aroma compositions of large-leaf yellow tea and potential effect of theanine on volatile formation in tea[J]. Food Chemistry, 2019, 280: 73-82.
- [11] ZHANG M M, YANG Y Q, YUAN H B, et al. Contribution of addition theanine/sucrose on the formation of chestnut-like aroma of green tea[J]. LWT, 2020, 129: [doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109512](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109512).
- [12] ZHANG W Y, ZHANG Y J, QIU H J, et al. Genome assembly of wild tea tree DASZ reveals pedigree and selection history of tea varieties[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 1-12.
- [13] WANG X C, FENG H, CHANG Y X, et al. Population sequencing enhances understanding of tea plant evolution [J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 1-10.
- [14] XIA E H, ZHANG H B, SHENG J, et al. The tea tree genome provides insights into tea flavor and independent evolution of caffeine biosynthesis[J]. Molecular Plant, 2017, 10(6): 866-877.
- [15] WEI C L, YANG H, WANG S B, et al. Draft genome sequence of *Camellia sinensis* var. *sinensis* provides insights into the evolution of the tea genome and tea quality[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(18): 4151-4158.
- [16] FU X M, LIAO Y Y, CHENG S H, et al. Nonaqueous fractionation and overexpression of fluorescent-tagged enzymes reveals the subcellular sites of L-theanine biosynthesis in tea[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020, 19(1): 98-108.
- [17] SUN M F, ZHANG C R, LU M Q, et al. Metabolic flux enhancement and transcriptomic analysis displayed the changes of catechins following long-term pruning in tea trees (*Camellia sinensis*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(32): 8566-8573.
- [18] WAMBULWA M C, MEEGAHAKUMBURA M K, KAMUNYA S, et al. From the wild to the cup: tracking footprints of the tea species in time and space[J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8: DOI: 10.3389/fnut.2021.706770.
- [19] 刘声传,段学艺,赵华富,等.贵州野生茶树种质资源生化多样性分析[J].植物遗传资源学报,2014,15(6):1255-1261.
- [20] 杨 凤,刘 霞,尹 杰,等.贵州野生茶树种质资源的主要生化成分及抗旱性评价[J].西南农业学报,2018,31(6):1122-1127.
- [21] 杨兴荣,矣 兵,李友勇,等.野生古茶树资源主要生化成分多样性分析[J].中国农学通报,2016,32(22):133-139.

- [22] 刘声传,曹雨,鄢东海,等. 贵州野生茶树资源地理分布和形态特征与气候要素的关系[J]. 茶叶科学, 2013, 33(6): 517-525.
- [23] TAO M, XIAO Z P, HUANG A, et al. Effect of 1 to 20 years storage on volatiles and aroma of Keemun congou black tea by solvent extraction-solid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 130: 1-8.
- [24] ZHANG L, CAO Q Q, DANIEL G, et al. Association between chemistry and taste of tea: a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 101: 139-149.
- [25] KANEKO S, KUMAZAWA K J, MASUDA H, et al. Molecular and sensory studies on the umami taste of Japanese green tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(7): 2688-94.
- [26] XU Y Q, ZHANG Y N, CHEN J X, et al. Quantitative analyses of the bitterness and astringency of catechins from green tea[J]. Food Chemistry, 2018, 258: 16-24.
- [27] ZHANG L, HO C T, ZHOU J, et al. Chemistry and biological activities of processed *Camellia sinensis* teas: a comprehensive review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2019, 18(5): 1474-1495.

(责任编辑:陈海霞)