

基于UPLC-Q-Exactive/MS的不同烘焙处理岩茶化学成分差异分析

钟秋生¹, 彭佳堃², 戴伟东^{2,*}, 林智², 吕海鹏², 陈泉宾¹, 李鑫磊¹, 陈常颂^{1,*}

(1.福建省农业科学院茶叶研究所, 福建 福州 350012; 2.中国农业科学院茶叶研究所, 浙江 杭州 310008)

摘要:为探明不同烘焙处理条件对岩茶品质与化学成分的影响,以肉桂品种(*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze cv. Rougui)岩茶毛茶为研究对象,设置不同烘焙温度(低火:100℃、中火:120℃、高火:140℃)与烘焙时间(2、4、6、8、10 h),采用基于超高效液相色谱-四极杆-静电轨道阱质谱(ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole orbitrap mass spectrometry, UPLC-Q-Exactive/MS)的代谢组学方法对其非挥发性化学成分进行系统研究并结合感官审评对其品质进行鉴定。本研究共鉴定出144种化合物,包括生物碱类、儿茶素类、二聚儿茶素类、氨基酸类、酚酸类、*N*-乙基-2-吡咯烷酮取代的儿茶素(*N*-ethyl-2-pyrrolidinone-substituted flavan-3-ols, EPSF)类、香气糖苷类、黄酮糖苷类及脂质类等11类化合物。偏最小二乘法判别分析和热图分析结果表明,不同烘焙处理岩茶化学成分存在较大差异,共得到84种具有组间显著性差异的化合物($P<0.05$),其中绝大部分为氨基酸类物质,以及大部分儿茶素类、二聚儿茶素类(茶黄素、聚酯型儿茶素)、生物碱类(5'-甲硫腺苷、磷酸腺苷等)、酚酸类(异绿原酸、小木麻黄素、茶没食子素等)及大部分黄酮糖苷类等化合物在温度达到120℃(中火)后随着焙火时间的延长含量逐渐下降。而大部分脂质类(甘油单酯(18:3)、溶血磷脂酰胆碱(18:3)、棕榈酸等)、小部分黄酮糖苷类化合物(杨梅素、山柰苷、槲皮素等)、部分有机酸类物质(焦谷氨酸、5-羟甲基-2-糠醛)等呈相反的变化趋势;绝大部分EPSF类化合物含量随着焙火温度升高和时间的延长而呈线性增加,但在温度达到140℃(高火)后随着烘焙时间的延长含量逐渐降低。感官审评鉴定表明,低温长时(100℃、8~10 h)或中温短时(120℃、2~4 h)烘焙有利于肉桂岩茶品质的提升。本研究采用UPLC-Q-Exactive/MS方法较为系统地阐明了肉桂岩茶在不同烘焙条件下样品化学物质的差异,为武夷岩茶品质研究及焙火工艺提供理论依据。

关键词:武夷岩茶;烘焙;化学成分;超高效液相色谱-四极杆-静电轨道阱质谱联用;代谢组学;感官评价

Analysis of Differences in Chemical Constituents of Rougui Rock Tea with Different Roasting Degrees by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Orbitrap Mass Spectrometry

ZHONG Qiusheng¹, PENG Jiakun², DAI Weidong^{2,*}, LIN Zhi², LÜ Haipeng², CHEN Quanbin¹, LI Xinlei¹, CHEN Changsong^{1,*}

(1. Tea Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350012, China;

2. Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008, China)

Abstract: In order to investigate the influence of different roasting degrees on the quality and chemical composition of Rougui rock tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze cv. Rougui), the non-volatile chemical compositions of tea samples processed at different roasting temperatures (low fire: 100 °C, medium fire: 120 °C, high fire: 140 °C) and for different time periods (2, 4, 6, 8 and 10 h) were systematically investigated by metabolomics based on ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole orbitrap mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive/MS), and their quality was evaluated by sensory

收稿日期: 2022-12-05

基金项目: 福建省公益科研院所专项(2021R1029006; 2021R1029004); 财政部和农业部: 国家茶叶产业技术体系项目(CARS-19); 农业高质量发展超越“5511”协同创新工程项目(XTCXGC2021004); 国家自然科学基金面上项目(32172630); 福建省农业科学院科技创新团队项目(CXTD2021006-1)

第一作者简介: 钟秋生(1983—)(ORCID: 0000-0002-7719-067X), 男, 副研究员, 硕士, 研究方向为茶叶加工及品质、品种资源与利用。E-mail: dingozqs2006@163.com

*通信作者简介: 戴伟东(1987—)(ORCID: 0000-0002-9593-138X), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为茶叶加工品质化学。E-mail: daiweidong@tricaas.com

陈常颂(1973—)(ORCID: 0000-0001-6999-673X), 男, 研究员, 硕士, 研究方向为茶树品种选育与资源利用。E-mail: ccs6536597@163.com

evaluation. A total of 144 compounds were structurally identified, belonging to 11 chemical classes including catechins, dimeric catechins, flavonoid glycosides (flavonol-*O*-glycosides and flavone-*C*-glycosides), *N*-ethyl-2-pyrrolidinone-substituted flavan-3-ols (EPSFs), amino acids, phenolic acids, organic acids, alkaloids, and lipids. Partial least squares discriminant (PLSD) analysis and heatmap analysis showed distinct differences in chemical components among rock tea samples with different baking treatments. A total of 84 compounds that significantly differed among treatment groups were identified ($P < 0.05$). The contents of most amino acids, epicatechins, dimeric catechins (theaflavins and theasinensins), alkaloids (5'-methionosine and adenosine phosphate), phenolic acids (isochlorogenic acid, strictinin and theogallin), and flavonoid glycosides were gradually decreased with roasting time at 120 °C, while most lipids (MG(18:3), LysoPC(18:3), and palmitic acid), some flavonol aglycones (myricetin, kaempferol, and quercetin), and some organic acids (pyroglutamic acid and 5-hydroxymethyl-2-furfural) showed the opposite trend. The contents of most EPSF compounds were increased linearly with roasting temperature and time, but it was gradually decreased with baking time at 140 °C. Sensory evaluation showed that low-temperature long-time (8–10 h at 100 °C) and medium-temperature short-time (2–4 h at 120 °C) were beneficial for the quality improvement of rock tea. This study provides a theoretical basis for the quality improvement of Wuyi rock tea.

Keywords: Wuyi rock tea; roasting; chemical composition; ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole orbitrap mass spectrometry; metabolomics; sensory evaluation

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221205-052

中图分类号: TS272

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2023) 20-0268-15

引文格式:

钟秋生, 彭佳堃, 戴伟东, 等. 基于UPLC-Q-Exactive/MS的不同烘焙处理岩茶化学成分差异分析[J]. 食品科学, 2023, 44(20): 268-282. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221205-052. <http://www.spkx.net.cn>

ZHONG Qiusheng, PENG Jiakun, DAI Weidong, et al. Analysis of differences in chemical constituents of Rougui rock tea with different roasting degrees by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole orbitrap mass spectrometry[J]. Food Science, 2023, 44(20): 268-282. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221205-052. <http://www.spkx.net.cn>

乌龙茶是六大茶类之一, 也是我国特有的茶类, 具有天然花果的独特香气和品种的特殊香韵。武夷岩茶作为闽北乌龙茶的代表, 以“岩骨花香”之岩韵深受消费者喜爱。其中‘肉桂’品种 (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze cv. Rougui) 制成的武夷岩茶更因其香气辛锐持久, 具桂皮香, 滋味醇厚、回甘等优异品质备受广大消费者的喜爱。在武夷岩茶加工过程中, 焙火工艺及焙火程度对武夷岩茶特有的色、香、味、形发挥着重要作用。前期, 学者针对武夷岩茶焙火方面做了许多研究, 从不同角度探明焙火对其品质及生化成分等方面的影响, 如不同焙火程度^[1-7]、不同焙火方式^[8-9]、不同品种岩茶焙火^[10-13]等。而前人研究大多采用常规生化检测方法, 检测技术和手段较为有限, 针对整体化学成分特征进行系统比较分析的研究较少。

近年来, 代谢组学以其高效、全面及准确的特点, 广泛应用于植物^[14]、医药^[15]、微生物^[16]、食品^[17]等研究领域, 并取得较大进展。目前, 基于代谢组学的茶叶品质特征与化学成分相关性研究也成为茶叶研究热点之一。韩沙沙等^[18]利用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱 (ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF

MS) 对比‘肉桂’和‘水仙’化学成分的差异; Chen Si等^[19]利用代谢组学方法结合超高效液相色谱-三重四极杆质谱等研究了14个不同品种武夷岩茶的生化品质差异; Xu Kai等^[20]利用液相色谱-质谱等代谢组学方法研究了3个不同区域岩茶样品代谢组分的变化; Yang Ping等^[21]利用气相色谱-嗅觉-质谱和全二维气相色谱-嗅觉-质谱联用的方法对不同烘焙温度肉桂岩茶挥发物进行分析检测; 徐邢燕^[22]利用市售的15个厂家共计83个肉桂岩茶样品, 根据感官审评将焙火程度分2组 (低火、中火), 利用UPLC-Q-TOF MS方法鉴定其差异成分, 认为氨基酸类、酚酸类、黄烷醇类、黄酮醇类、酯类、多环芳香族类和类萜苷类是主要差异物, 其中黄烷醇和黄酮醇类物质占比较大; 中火茶中茶氨酸异构体1,3,4,3'-三-*O*-甲基鞣花酸、3-*O*-对香豆酰基奎宁酸、芳樟醇樱草苷异构体1和表儿茶素相对含量极显著低于轻火茶。目前, 针对同一厂家的肉桂品种岩茶 (毛茶) 在不同烘焙程度下代谢组分差异变化研究鲜见报道。超高效液相色谱-四极杆-静电轨道阱质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole orbitrap mass spectrometry, UPLC-Q-Exactive/MS) 与其他代谢组学平台相比优势明显, 其灵敏度、分辨率及峰重现性更高, 并允许同时对多种化合物进行快

速定性或相对定量分析^[23]。基于此,本研究采用UPLC-Q-Exactive/MS技术结合多变量统计学方法对不同烘焙处理肉桂品种岩茶样品的化合物进行全面系统地解析,从而为武夷岩茶品质研究、质量控制及焙火工艺优化等提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

乌龙茶样品于2022年5月进行制作。肉桂品种鲜叶采摘后在武夷山永生茶厂进行加工,制作工艺路线:晒青→晾青→做青→炒青→揉捻→初烘→包揉→毛火→足火→毛茶。毛茶制作完成后,经手工拣去茶梗、黄片、老叶后,进行焙火处理。

焙火处理:以干燥拣剔后的茶样为原料,采用6CXH-70型茶叶提香机进行焙火(每笼摊叶2.5 kg,摊叶厚度约为5 cm,重复3次),设置不同焙火温度(低火:100 ℃;中火:120 ℃;高火:140 ℃)和焙火时间(0、2、4、6、8、10 h),其中以不焙火茶样作对照,则共有16组处理(表1)。在焙火工艺结束时取样,需感官审评的茶叶样品置于5 ℃冰箱中贮藏备用;其他茶叶样品在进行代谢组学分析前磨碎,后放入-20 ℃冰箱中保存备用。

表1 不同烘焙处理岩茶样品信息
Table 1 Information about Wuyi rock tea samples with different roasting degrees

处理	样品代号	烘焙温度/℃	烘焙时间/h
毛茶(未焙火)	R1		
	RL-1	100	2
低火	RL-2	100	4
	RL-3	100	6
	RL-4	100	8
	RL-5	100	10
中火	RM-1	120	2
	RM-2	120	4
	RM-3	120	6
	RM-4	120	8
	RM-5	120	10
高火	RH-1	140	2
	RH-2	140	4
	RH-3	140	6
	RH-4	140	8
	RH-5	140	10

实验用水为Milli-Q超纯水;乙腈(色谱纯)、甲醇(液相色谱-质谱级) 美国Merck公司;甲酸(>99.0%) 日本TCI公司;儿茶素(catechin, C)、表儿茶素(epicatechin, EC)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)、没食子儿茶素

(gallocatechin, GC)、茶氨酸、脯氨酸、谷氨酸、牡荆素、异牡荆素、槲皮素-3-葡萄糖苷、槲皮素-3-半乳糖苷、槲皮素-3-芸香苷、山柰酚-3-芸香苷、山柰酚-3-半乳糖苷、山柰酚-3-葡萄糖苷等标准品 美国Sigma公司;聚酯型儿茶素A、聚酯型儿茶素F、原花青素B₁、原花青素B₂、茶黄素(theaflavin, TF)、茶黄素-3-没食子酸酯(theaflavin-3-gallate, TF-3-G)、茶黄素-3'-没食子酸酯(theaflavin-3'-gallate, TF-3'-G)、茶黄素-3,3'-没食子酸酯(theaflavin-3,3'-digallate, TF-DG)等标准品 武汉ChemFaces公司。

1.2 仪器与设备

6CXH-70型茶叶提香机 福建省安溪佳友机械有限公司;UPLC-Q-Exactive/MS仪 美国赛默飞世尔科技有限公司;T3色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 美国Waters公司;粉碎研磨机 德国IKA公司;SQP电子天平 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;DK-S11型电热恒温水浴锅 上海森信实验仪器有限公司;5810R型高速冷冻离心机 德国Eppendorf公司。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理

参考陈丹等^[24]的方法:准确称量各岩茶样0.1 g,加入15 mL的离心管中,再加入10 mL体积分数70%甲醇溶液,待充分溶解后置于70 ℃水浴锅浸提30 min,然后8 000 r/min离心10 min,取上清液经0.22 μm滤膜过滤,加超纯水稀释1 倍后进行UPLC-Q-Exactive/MS分析。每个茶叶样品设置3个平行,同时取等体积所有茶叶样品充分混合,制成QC样品,均匀地插入分析序列中,用于评价代谢组学过程的稳定性。

1.3.2 UPLC-Q-Exactive/MS分析

采用课题组前期建立的方法^[25]进行。

UPLC条件:T3色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),柱温40 ℃,流速0.4 mL/min,进样量3 μL。流动相:A相为体积分数0.1%甲酸-水溶液,B相为体积分数0.1%甲酸-乙腈溶液。洗脱程序:0~5 min,98% A、2% B;10 min,85% A、15% B;18 min,60% A、40% B;20 min,10% A、90% B;20.9 min,10% A、90% B;21~25 min,98% A、2% B。

MS条件:采用电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)源,正离子模式,毛细管电压3.5 kV,毛细管温度300 ℃,辅助气温度350 ℃,辅助气流速10 L/min,质量扫描范围m/z 100~1 200。

1.3.3 茶叶感官审评

依据GB/T 23776—2018《茶叶感官审评方法》,由农业农村部茶叶质量监督检验测试中心对外形、汤色、香气、滋味和叶底5项因子分别进行审评术语描述及综合评分。

1.4 数据处理

经UPLC-Q-Exactive/MS分析得到的原始图谱采用Compound Discoverer 3.2软件进行峰匹配与峰面积提取，主成分分析（principal components analysis, PCA）和偏最小二乘判别分析（partial least squares discriminant analysis, PLS-DA）使用Simca 14.1软件（Umetrics AB, Umeå, 瑞典），独立样本 t 检验和非参数检验（Kruskal-Wallis H test）使用SPSS Statistics 25软件（美国IBM公司），热图分析由Mev 4.7.4（Oracle, 美国）软件完成，柱形图制作采用Sigmpilot 10.0（Systat）完成。

2 结果与分析

2.1 不同烘焙处理岩茶感官审评结果

表2 不同烘焙处理岩茶感官审评结果
Table 2 Sensory evaluation results of Wuyi rock tea with different roasting degrees

样品	外形评语	汤色评语	香气评语	滋味评语	叶底评语	得分
R1	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、褐	橙黄、较明亮	较馥郁、微青	甘和、微青涩	较软、褐绿泛黄	88.33±0.24 ^f
RL-1	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、褐	橙黄、明亮	较馥郁	尚甘醇、微涩	较软、褐绿泛黄	88.23±0.25 ^e
RL-2	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、褐	橙黄、明亮	馥郁	尚甘醇、微涩	较软、绿褐	88.56±0.51 ^{bc}
RL-3	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、褐	橙黄、明亮	馥郁	较甘醇、微涩	较软、绿褐	88.95±0.52 ^{ab}
RL-4	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、褐	橙黄、明亮	馥郁	较甘醇、微涩	较软、绿褐	89.24±0.42 ^a
RL-5	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、褐	浅橙红、明亮	馥郁	较醇厚、较甘、微涩	较软、绿褐	89.18±0.11 ^a
RM-1	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、乌褐	浅橙红、较明亮	馥郁	较醇厚、较甘、略涩	较软、绿褐	89.23±0.15 ^a
RM-2	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、乌褐	浅橙红、较明亮	馥郁、略有火工	较醇厚、较甘、有火工	尚软、褐	89.18±0.35 ^a
RM-3	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、乌褐	浅橙红、较明亮	较馥郁、有火工	较醇厚、较甘、有火工	尚软、褐	88.51±0.23 ^{bc}
RM-4	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、乌褐	橙红、较明亮	尚馥郁、有火工	较醇厚、较甘、略涩、有火工	尚软、褐	87.61±0.08 ^d
RM-5	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、乌褐	橙红、较明亮	尚馥郁、火工高	较醇厚、较甘、火工高	尚软、乌褐	86.98±0.26 ^c
RH-1	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、乌褐	浅橙红、较明亮	尚馥郁、火工高	较甘醇、微涩	较软、褐	87.32±0.18 ^{de}
RH-2	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、乌褐	橙红、较明亮	火工高、微焦	较醇厚、略涩、有火工	稍硬、暗褐	84.92±0.13 ^f
RH-3	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、乌褐	深橙红、较明亮	火工高、微焦	较醇厚、略涩、火工高	稍硬、暗褐	82.72±0.43 ^g
RH-4	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、乌褐	红、较明亮	火工高、略焦	较醇厚、略涩、火工高	稍硬、暗褐	81.57±0.49 ^h
RH-5	尚壮结、叶端扭曲、带茎梗、乌褐	红深、较明亮	火工高、略焦	较醇厚、略涩、火工高	稍硬、暗褐	79.13±0.54 ⁱ

注：同列小写字母不同表示差异显著（ $P<0.05$ ）。

通过对不同岩茶样品感官审评（表2）发现，未经焙火的毛茶（R1）表现为汤色橙黄较明亮，香气微青，滋味甘和、微青涩，叶底褐绿泛黄；经过焙火之后，青气消失，香气向馥郁转化，滋味变甘醇，叶底呈褐色；

在中火（120℃）烘焙2 h后，岩茶干茶向乌褐转变，香气和滋味均带有火工；在高火（140℃）烘焙达2 h后，汤色转深，香气和滋味表现为有高火工、微焦的特征，叶底转向暗褐。由审评得分可知，低火（100℃）烘焙8~10 h（RL-4、RL-5）及中火（120℃）烘焙2~4 h（RM-1、RM-2），总体品质较好，得分显著高于未焙火茶样（高出未焙火0.85~0.91分）。因此，低温长时（100℃、8~10 h）或中温短时（120℃、2~4 h）烘焙有利于肉桂岩茶品质的提升。这与前人的研究结果^[3-4]一致，轻火和中火处理比足火处理后的武夷岩茶品质更好。

2.2 不同烘焙处理岩茶化学成分的UPLC-Q-Exactive/MS分析结果

经峰匹配与校准后共得到2 150个化合物离子。通过与标准品比较、一级质谱、二级质谱分析等共鉴定出144种化合物，其中包括生物碱类6种、核苷（酸）类5种、氨基酸类14种、香气糖苷类4种、二聚儿茶素类14种、*N*-乙基-2-吡咯烷酮取代的儿茶素（*N*-ethyl-2-pyrrolidinone-substituted flavan-3-ols, EPSF）类15种、儿茶素类12种、黄酮（醇）糖苷类34种、脂质类11种、有机酸类8种、酚酸类12种及其他类化合物9种（表3）。

表3 不同烘焙处理岩茶样品中鉴定出的化合物
Table 3 Compounds identified in Wuyi rock tea samples with different roasting degrees

序号	化合物 中文名称	英文名称	[M+H] m/z	保留 时间/min	VIP	P值
生物碱类						
1	(S)-5'-脱氧-5'-甲硫腺苷	(S)-5'-deoxy-5'-(methylsulfinyl)adenosine	314.090 8	1.857	1.079	0.297
2	5'-甲硫腺苷 ^a	5'-methylthioadenosine	298.096 1	6.12	1.291	<0.000 1
3	腺嘌呤 ^a	adenine	136.061 5	0.718	1.115	0.524
4	腺苷 ^a	adenosine	268.103 3	1.965	0.856	0.434
5	一磷酸腺苷 ^a	AMP	348.069 3	1.061	1.073	0.032
6	咖啡碱 ^a	caffeine	195.087 2	8.174	0.286	0.669
7	胆碱 ^a	choline	104.107 0	0.628	0.500	0.003
8	甘磷酸胆碱	glycerophosphocholine	258.109 3	0.654	1.394	0.049
9	内酰乙醇胺	N-lactoyl ethanolamine	134.080 8	0.655	0.510	0.271
10	胆碱磷酸 ^a	phosphocholine	184.072 9	0.645	0.517	0.498
11	可碱 ^a	theobromine	181.071 7	4.788	0.615	0.602
氨基酸类						
12	天冬酰胺 ^a	asparagine	133.060 5	0.635	1.016	<0.000 1
13	天冬氨酸 ^a	aspartic acid	134.044 5	0.642	0.953	0.004
14	γ -氨基丁酸 ^a	γ -aminobutyric acid	104.071 3	0.645	1.118	0.000
15	谷氨酸 ^a	glutamic acid	148.060 1	0.655	1.498	<0.000 1
16	谷氨酰胺 ^a	glutamine	147.076 1	0.644	0.766	0.008
17	精氨酸 ^a	L-arginine	175.118 6	0.614	0.682	<0.000 1
18	组氨酸 ^a	L-histidine	156.076 4	0.608	0.896	0.107
19	赖氨酸 ^a	L-lysine	147.112 6	0.563	1.006	0.065
20	苯丙氨酸 ^a	L-phenylalanine	166.085 9	3.169	1.224	<0.000 1
21	酪氨酸 ^a	L-tyrosine	182.061 1	1.239	0.417	0.609

续表3

序号	化合物		[M+H] m/z	保留 时间/min	VIP	P值
	中文名称	英文名称				
22	脯氨酸 ^a	proline	116.070 7	0.698	0.913	0.000
23	茶氨酸 ^a	theanine	175.107 3	1.059	1.450	<0.000 1
24	色氨酸 ^a	tryptophan	205.096 8	5.482	0.959	0.007
25	缬氨酸 ^a	valine	118.086 2	0.677	0.817	0.015
香气糖苷类						
26	苯甲基樱草糖苷 ^a	benzyl primeveroside	425.140 6	9.486	1.318	0.000
27	氧化芳樟醇樱草糖苷	linalool oxide primeveroside	487.213 6	13.931	0.182	0.906
28	芳樟醇樱草糖苷 ^a	linalool primeveroside	471.218 8	16.997	0.474	0.972
29	苯乙基樱草糖苷 ^a	phenylethyl primeveroside	439.156 2	11.499	0.775	0.840
儿茶素二聚体类						
30	表儿茶素-4 α -8-表儿茶素 没食子酸酯	EC-(4 α -8)-ECG	731.158 3	10.625	0.677	0.127
31	表儿茶素-4 β -8-表没食子 儿茶素	EC-(4 β -8)-EGC	595.143 3	7.29	0.668	0.215
32	表儿茶素-4 β -8-表没食子 儿茶素没食子酸酯	EC-(4 β -8)-EGCG	747.153 0	9.857	0.523	0.301
33	原花青素B ₁ ^a	procyanidin B ₁	579.148 1	8.703	0.687	0.078
34	原花青素B ₂ ^a	procyanidin B ₂	579.148 3	7.403	0.531	0.127
35	原花青素C ₁ ^a	procyanidin C ₁	867.210 5	9.565	0.250	0.581
36	茶黄素 ^a	TF	565.132 5	16.248	1.364	<0.000 1
37	茶黄素-3,3'-双没食子酸酯 ^a	TF-DG	869.153 2	16.836	0.582	0.044
38	茶黄素-3'-没食子酸酯 ^a	TF-3'-G	717.142 4	16.86	1.238	<0.000 1
39	茶黄素-3-没食子酸酯 ^a	TF-3-G	717.142 5	16.622	1.186	0.001
40	聚酯型儿茶素A	theasinensin A	915.157 0	8.958	0.520	0.389
41	聚酯型儿茶素B	theasinensin B	763.146 9	6.336	1.105	0.000
42	聚酯型儿茶素C	theasinensin C	611.137 6	5.556	0.558	0.265
43	聚酯型儿茶素F	theasinensin F	899.163 8	11.332	0.220	0.956
EPSF类						
44	6-C-(R)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EC	6-C-R-EC-cThea	402.153 5	12.601	1.769	<0.000 1
45	6-C-(R)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的ECG	6-C-R-ECG-cThea	554.164 2	14.314	0.243	0.855
46	6-C-(R)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EGC	6-C-R-EGC-cThea	418.148 5	11.217	0.896	0.255
47	6-C-(R)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EGCG	6-C-R-EGCG-cThea	570.159 0	13.038	0.328	0.334
48	6-C-(S)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EC	6-C-S-EC-cThea	402.153 5	12.319	0.272	0.824
49	6-C-(S)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的ECG	6-C-S-ECG-cThea	554.164 2	14.182	0.365	0.458
50	6-C-(S)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EGC	6-C-S-EGC-cThea	418.148 5	11.121	1.089	0.182
51	8-C-(R)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EC	8-C-R-EC-cThea	402.153 5	13.184	1.599	<0.000 1
52	8-C-(R)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的ECG	8-C-R-ECG-cThea	554.164 2	14.582	1.044	<0.000 1
53	8-C-(R)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EGC	8-C-R-EGC-cThea	418.148 5	11.468	1.762	<0.000 1
54	8-C-(R)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EGCG ^a	8-C-R-EGCG-cThea	570.159 0	13.201	1.655	<0.000 1
55	8-C-(S)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EC	8-C-S-EC-cThea	402.153 6	12.935	1.562	<0.000 1
56	8-C-(S)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的ECG	8-C-S-ECG-cThea	554.164 3	14.433	0.482	0.789
57	8-C-(S)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EGC	8-C-S-EGC-cThea	418.148 5	10.514	1.708	<0.000 1
58	8-C-(S)-N-乙基-2-吡咯烷 酮取代的EGCG ^a	8-C-S-EGCG-cThea	570.159 0	12.651	1.572	<0.000 1
儿茶素类						
59	8-C-抗坏血酸表没食子儿 茶素-3-没食子酸酯	8-C-ascorbyl epigallocatechin 3-gallate	633.109 5	7.123	0.811	0.279

续表3

序号	化合物		[M+H] m/z	保留 时间/min	VIP	P值
	中文名称	英文名称				
60	儿茶素 ^a	C	291.085 6	7.706	1.378	0.001
61	表儿茶素 ^a	EC	291.085 6	9.853	1.369	<0.000 1
62	表儿茶素没食子酸酯 ^a	ECG	443.096 0	12.946	1.275	<0.000 1
63	表没食子儿茶素 ^a	EGC	307.080 3	7.25	1.346	<0.000 1
64	表没食子儿茶素-3,5-双没 食子酸酯	EGC-3,5-digallate	611.100 9	12.811	0.573	0.270
65	表没食子儿茶素没食子酸酯	EGCG	459.090 9	10.092	1.056	0.009
66	3"-甲基-表没食子儿茶素 没食子酸酯 ^a	EGCG-3"Me	473.106 5	12.347	1.134	<0.000 1
67	表阿夫儿茶精 ^a	epiafzelechin	275.090 8	11.628	1.030	0.016
68	表阿夫儿茶精-3-没食子酸酯 ^a	epiafzelechin 3-gallate	427.101 1	14.301	0.984	0.088
69	没食子儿茶素 ^a	GC	307.080 4	4.662	0.827	0.105
70	没食子儿茶素没食子酸酯 ^a	GCG	459.091 0	11.048	1.614	<0.000 1
黄酮(醇)糖苷类						
71	芹菜素 ^a	apigenin	271.059 4	17.904	0.094	0.612
72	柚皮素 ^a	naringenin	273.075 0	12.946	0.355	0.599
73	山柰酚 ^a	kaempferol	287.054 2	18.116	0.726	0.002
74	杨梅素 ^a	myricetin	319.044 0	14.761	1.286	<0.000 1
75	槲皮素 ^a	quercetin	303.049 1	16.535	1.194	<0.000 1
76	芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷 ^a	apigenin-6,8-C-diglucoside	595.163 9	10.74	1.063	0.001
77	芹菜素-6-C-阿拉伯糖- 8-C-葡萄糖苷 ^a	apigenin-6-C-arabinoside-8-C- glucoside	565.153 6	12.093	1.437	<0.000 1
78	异红草素 ^a	isorientin	449.106 6	12.207	0.541	0.107
79	异牡荆素 ^a	isovitexin	433.111 7	13.221	1.486	0.120
80	木犀草素糖苷 ^a	luteolin-8-C-glucoside	449.106 6	12.085	1.026	0.098
81	牡荆素 ^a	vitexin	433.111 7	13.027	0.233	0.477
82	山柰苷 ^a	kaempferitrin	579.169 1	13.185	0.767	0.467
83	山柰酚-3- (6-乙酰半乳糖苷)	kaempferol-3-(6- acetylgalactoside)	491.117 1	15.534	1.807	<0.000 1
84	山柰酚-3-(6"-没食子酰葡 萄糖苷)	kaempferol-3-(6"- galloylglucoside)	601.116 5	14.045	0.320	0.011
85	山柰酚-3-阿拉伯糖苷 ^a	kaempferol-3-arabinoside	419.096 0	14.576	1.415	<0.000 1
86	山柰酚-3-O-半乳糖酰芸香 糖苷	kaempferol-3- galactosylrutinoside	757.213 8	13.175	1.572	<0.000 1
87	山柰酚-3-O-葡萄糖酰芸香 糖苷	kaempferol-3- glucosylrutinoside	757.213 4	13.581	1.337	<0.000 1
88	山柰酚-7-(6"-没食子酰葡 萄糖苷)	kaempferol-7-(6"- galloylglucoside)	601.116 9	13.463	0.370	0.013
89	山柰酚-3-O-半乳糖苷 ^a	kaempferol-3-galactoside	449.106 6	13.95	1.546	<0.000 1
90	山柰酚-3-O-葡萄糖苷 ^a	kaempferol-3-glucoside	449.106 5	14.273	1.532	<0.000 1
91	山柰酚-3-O-芸香糖苷 ^a	kaempferol-3-rutinoside	595.163 5	14.001	1.442	<0.000 1
92	山柰酚-7-O-葡萄糖苷 ^a	kaempferol-7-glucopyranoside	449.106 5	13.581	0.497	0.368
93	杨梅素-3-O-半乳糖苷 ^a	myricetin-3-galactoside	481.096 4	11.897	1.336	<0.000 1
94	杨梅素-3-O-葡萄糖苷 ^a	myricetin 3-glucoside	481.096 4	12.093	0.959	0.057
95	杨梅素-3-O- 半乳糖酰芸香糖苷	myricetin galactosylrutinoside	789.203 6	11.317	0.290	0.233
96	杨梅素-3-O- 葡萄糖酰芸香糖苷	myricetin glucosylrutinoside	789.203 3	11.503	0.547	0.161
97	槲皮素-3-O- (3-p-香豆酰葡萄糖苷)	quercetin-3-(3-p- coumaroylglucoside)	611.137 1	16.084	0.315	0.268
98	槲皮素-3-O- 半乳糖酰芸香糖苷	quercetin-3- galactosylrutinoside	773.207 9	12.472	0.787	0.459
99	槲皮素-3-O-葡萄糖酰芸香 糖苷	quercetin-3-glucosylrutinoside	773.208 0	12.757	1.245	<0.000 1
100	槲皮素-3-O-芸香糖苷 ^a	quercetin-3-rutinoside	611.158 2	13.139	0.906	<0.000 1
101	槲皮素二葡萄糖苷	quercetin-diglucoside	627.153 1	11.941	0.226	0.288
102	槲皮素三糖苷	quercetin-triglucoside	789.203 4	12.039	0.474	0.717
103	槲皮素-3-O-半乳糖苷 ^a	quercetin-3-galactoside	465.101 5	13.206	1.587	<0.000 1

续表3

序号	中文名称	英文名称	[M+H] m/z	保留 时间/min	VIP	P值
104	槲皮素-3-O-葡萄糖苷 ^a	quercetin-3-glucoside	465.101 5	13.393	0.387	0.353
脂类						
105	羟基十六烷酸	hydroxyhexadecanoic acid	290.268 2	20.012	0.297	0.815
106	溶血磷脂酰胆碱 (16:0)	lysophosphatidylcholine (LysoPC) (16:0)	496.338 4	21.235	0.868	0.034
107	溶血磷脂酰胆碱 (18:3)	LysoPC (18:3)	518.322 7	20.852	1.363	<0.000 1
108	甘油单酯 (18:0)	monoglyceride (MG) (18:0)	359.314 1	21.726	0.805	0.036
109	甘油单酯 (18:3)	MG (18:3)	353.267 4	21.155	1.084	<0.000 1
110	棕榈酸 ^a	palmitic acid	274.273 4	19.945	0.634	0.018
111	棕榈酰胺 ^a	palmitic amide	256.262 8	20.85	0.326	0.971
112	脱镁叶绿素b ^a	phaeophorbide b	607.253 2	20.946	0.310	0.008
113	植物鞘氨醇 ^a	phytosphingosine	318.299 4	19.99	0.813	0.000
114	焦脱镁叶绿素a ^a	pyropheophorbide a	535.268 8	21.494	0.178	0.034
115	二氢神经鞘氨醇 ^a	sphinganine	302.304 7	20.358	0.569	0.001
有机酸类						
116	2,2'-(3-甲基环己-1,1-二基)二乙酸	2,2'-(3-methylcyclohexane-1,1-diyl) diacetic acid	197.116 9	12.973	0.971	0.565
117	5-羟甲基-2-糠醛	5-hydroxymethyl-2-furfural	127.038 8	3.444	1.102	0.002
118	六氢异烟酸	isonipicotic acid	130.049 6	0.644	0.604	0.511
119	泛酸 ^a	pantothenic acid	220.117 4	4.332	1.114	0.084
120	2-吡啶酸 ^a	pipecolic acid	130.086 2	0.719	0.558	0.011
121	焦谷氨酸 ^a	pyroglutamic acid	130.049 7	1.241	2.125	<0.000 1
122	奎宁酸 ^a	quinic acid	193.070 2	0.709	0.703	0.475
123	香草酸	vanillic acid	169.057 9	0.635	0.199	0.620
酚酸类						
124	3-香豆酰奎酸	3-coumaroylquinic acid	339.106 5	11.342	0.957	0.001
125	4-香豆酰奎酸	4-coumaroylquinic acid	339.106 2	7.254	1.055	0.323
126	菊苷酸	chicoric acid	475.085 9	9.331	1.176	0.017
127	绿原酸 ^a	chlorogenic acid	355.101 3	7.973	0.143	0.396
128	香豆酸 ^a	coumaric acid	182.080 9	4.361	1.141	<0.000 1
129	二没食子酰葡萄糖 ^a	digalloylglucose	467.080 4	11.604	0.554	0.481
130	没食子酸 ^a	gallic acid	171.028 1	2.289	0.869	0.039
131	异绿原酸A ^a	isochlorogenic acid A	517.133 4	14.706	0.339	0.039
132	异绿原酸B	isochlorogenic acid B	517.132 7	14.199	1.336	0.244
133	鲁米诺酸	lucuminic acid	469.130 5	10.696	0.305	<0.000 1
134	小麻黄素 ^a	strictinin	635.085 6	8.47	0.390	0.770
135	茶没食子素 ^a	theogallin	345.080 6	2.97	0.615	0.006
其他类						
136	1-乙基-5-羟基-2-吡咯烷酮 ^a	1-ethyl-5-hydroxy-2-pyrrolidinone	130.086 1	2.642	1.362	<0.000 1
137	2-[4-(3-羟丙基)-2-甲氧苯氧基]-1,3-丙二醇	2-[4-(3-hydroxypropyl)-2-methoxyphenoxy]-1,3-propanediol	257.137 6	9.132	0.529	0.083
138	金鸡纳素Ib	cinchonain Ib	453.116 7	15.908	1.006	<0.000 1
139	金鸡纳素Ic	cinchonain Ic	453.116 6	14.73	1.202	<0.000 1
140	金鸡纳素Id	cinchonain Id	453.116 7	14.472	1.253	<0.000 1
141	二氢猕猴桃内酯 ^a	dihydroactinidiolide	181.122 0	19.139	0.633	0.188
142	羟基茉莉酸葡萄糖苷 ^a	hydroxyjasmonic acid glucoside	411.161 3	9.856	1.251	<0.000 1
143	蔗糖 ^a	sucrose	343.122 3	0.71	1.203	0.030
144	茶氨酸葡萄糖苷 ^a	theanine glucoside	337.159 5	1.14	1.100	0.584

注: a.化合物经标准品验证, 其余化合物综合二级质谱、保留时间、人类代谢组数据库检索等信息进行鉴定; P值为Student's *t*检验; 变量投影重要性 (variable importance projection, VIP)。

2.3 基于UPLC-Q-Exactive/MS的不同烘焙处理岩茶化学成分的差异分析

将提取得到的2 150 个化合物离子进行PCA分析, 了解不同样品间的总体化合物差异和重复样品的组内变异性。如图1A所示, PC1和PC2分别解释了总方差的19.1%和4.4%, 且各焙火处理样品之间有明显分离的趋势, 说

明各组岩茶成分差异较为明显。为进一步研究不同焙火处理茶样品组间差异的关键化合物, 采用有监督的PLS-DA方法进行统计分析。图1B为不同焙火肉桂岩茶的PLS-DA得分图 ($R^2_x=0.334$, $R^2_y=0.995$), 可以看出各焙火处理组之间有明显的分离趋势, 表明各焙火处理样品之间化学成分存在差异。图1C为PLS-DA验证模型, 交叉验证模型的 R^2 和 Q^2 的截距分别为0.114 4和-0.078 6, 表明PLS-DA模型可靠; 结合载荷图 (图1D) 发现, 不同化合物载荷图中分布位置不同, 表示这些化合物在未焙火、低火、中火和高火武夷岩茶中的含量不同。

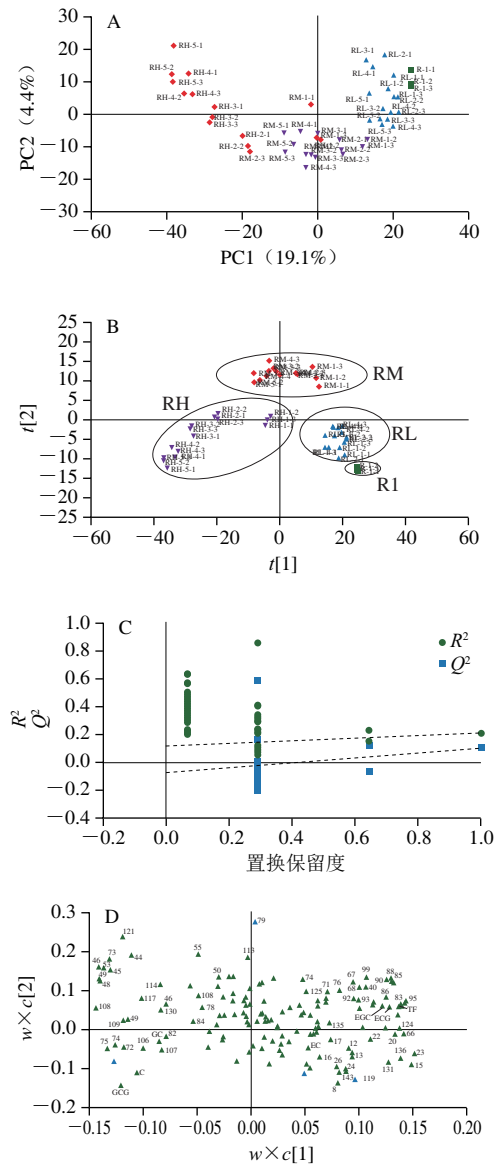


图1 不同焙火处理武夷岩茶的PCA得分图 (A)、PLS-DA得分图 (B)、PLS-DA模型交叉验证图 (C) 和载荷图 (D)
Fig. 1 PCA score plot (A), PLS-DA score plot (B), cross-validation of PLS-DA model (C) and loading plot (D) of Wuyi rock tea with different roasting degrees

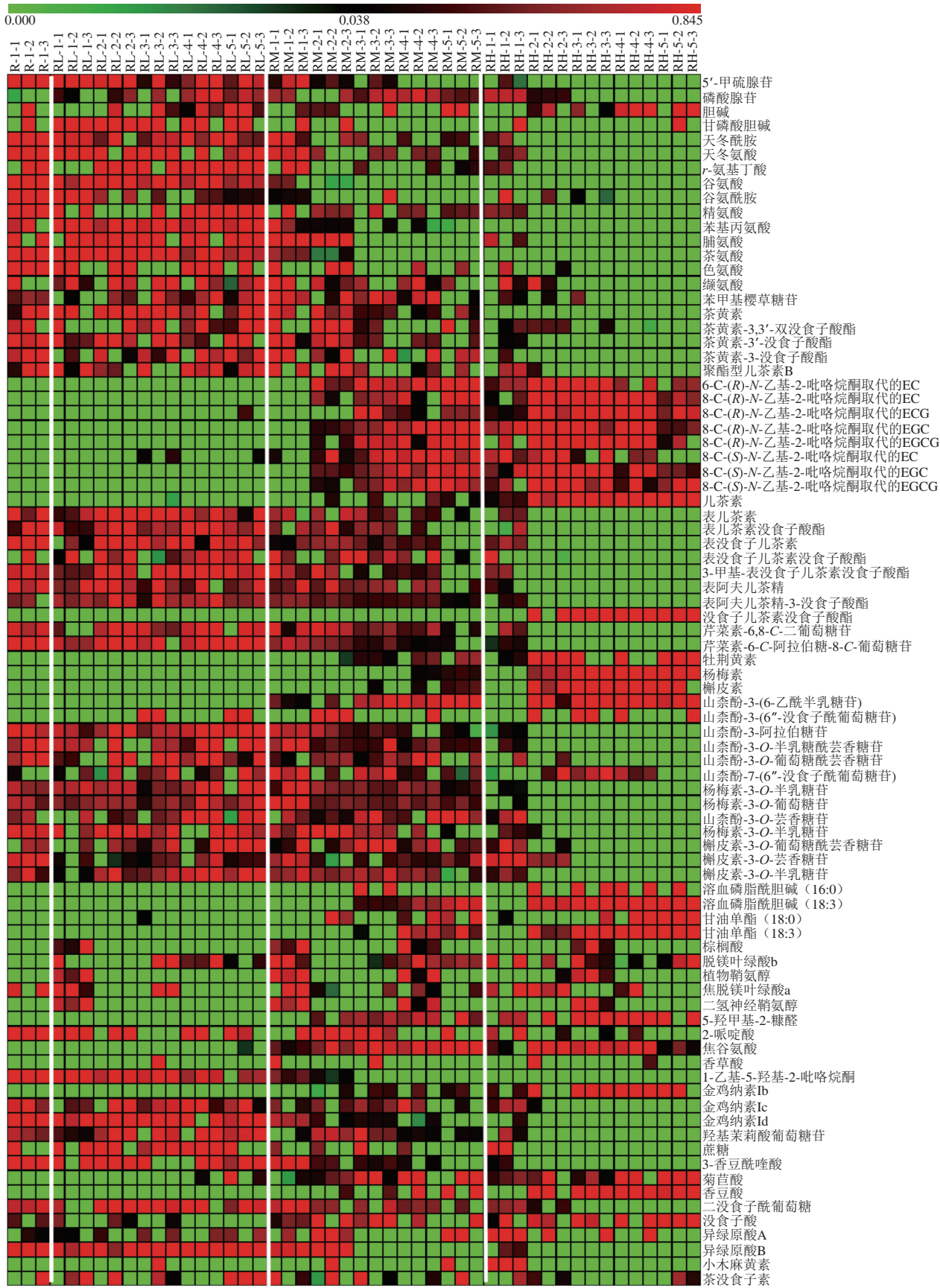


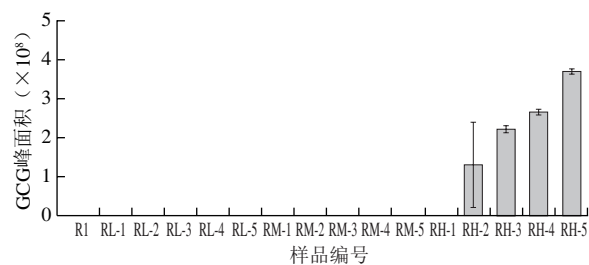
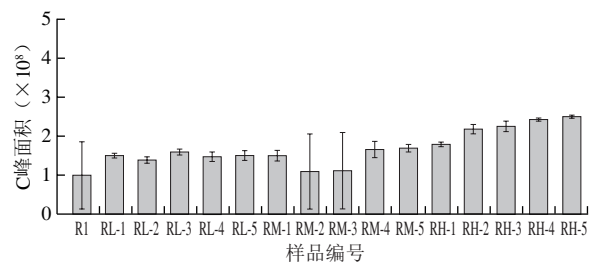
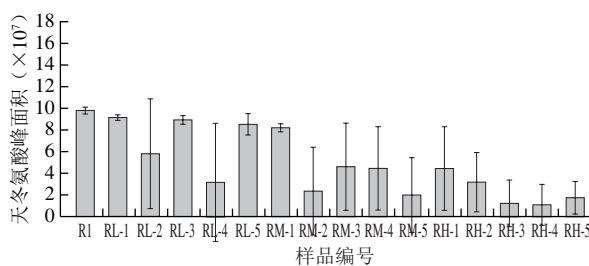
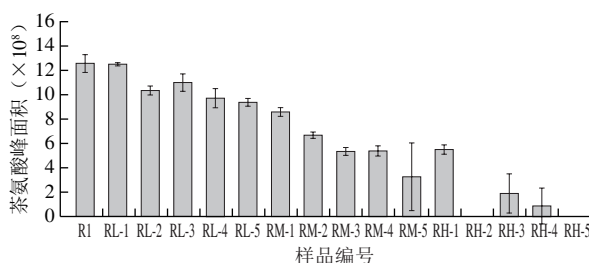
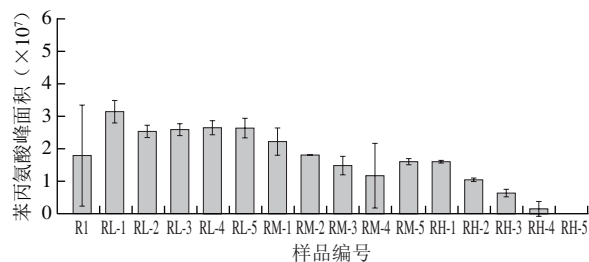
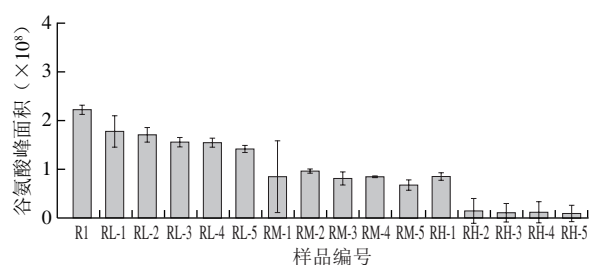
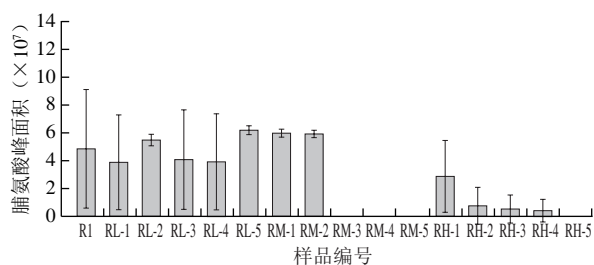
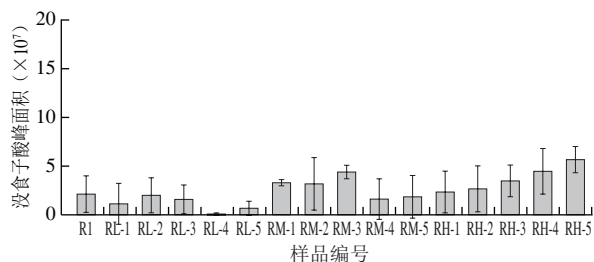
图2 不同烘焙处理武夷岩茶差异化合物含量热图

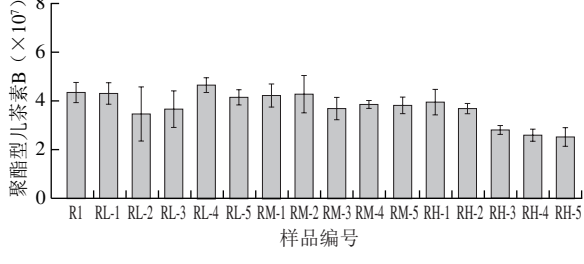
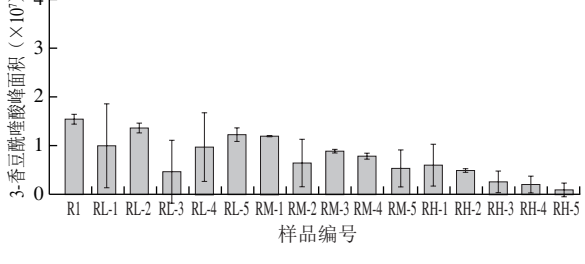
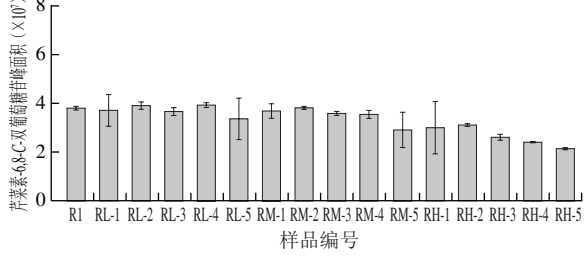
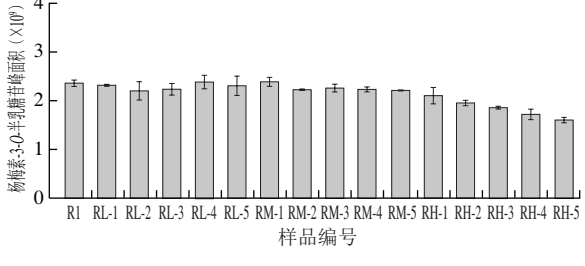
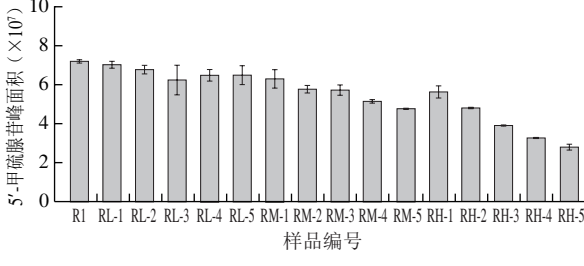
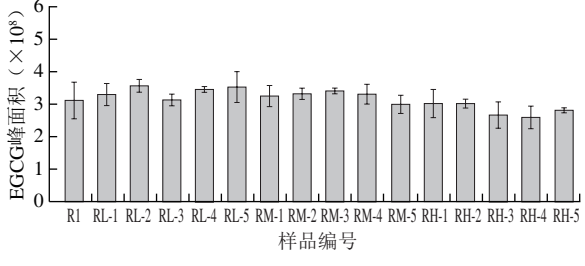
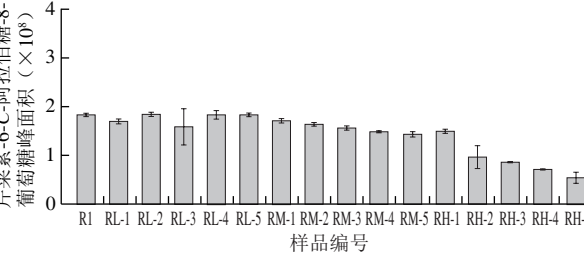
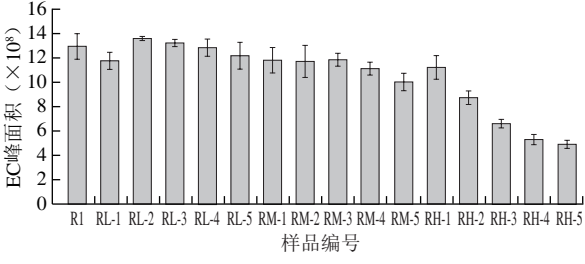
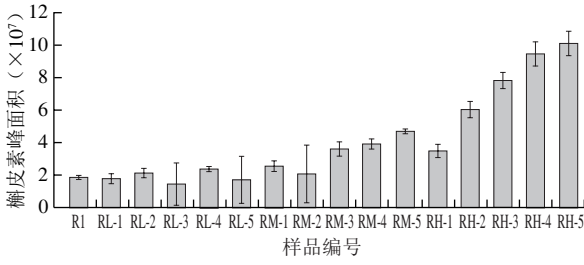
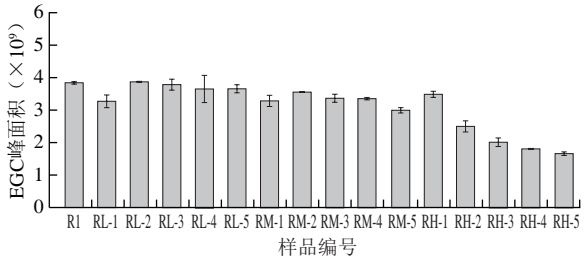
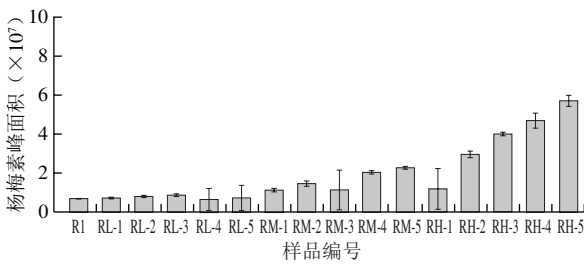
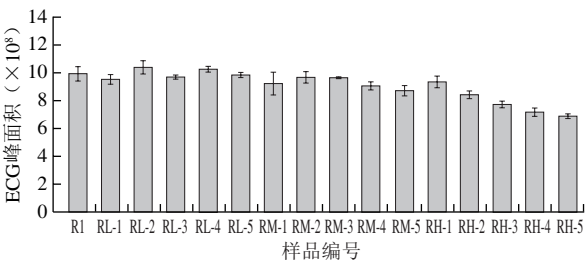
Fig. 2 Heatmap of differential compounds in Wuyi rock tea with different roasting degrees

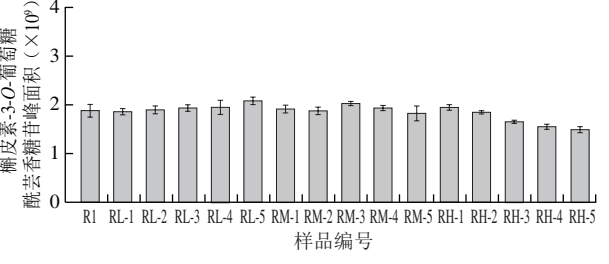
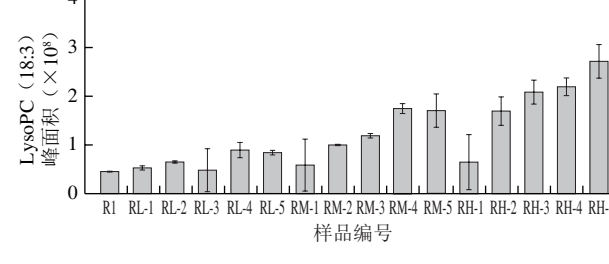
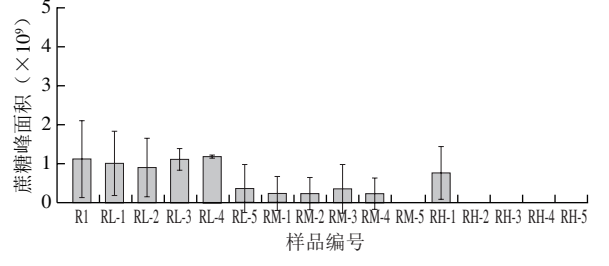
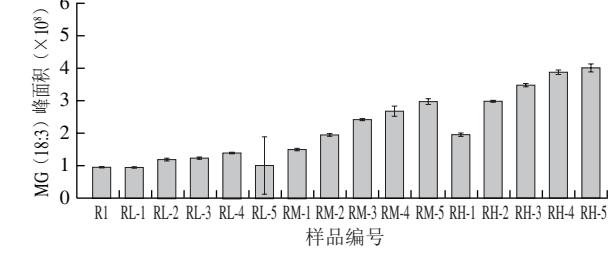
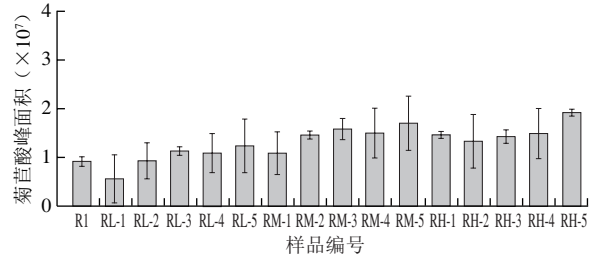
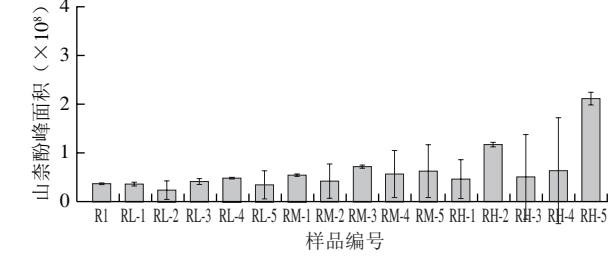
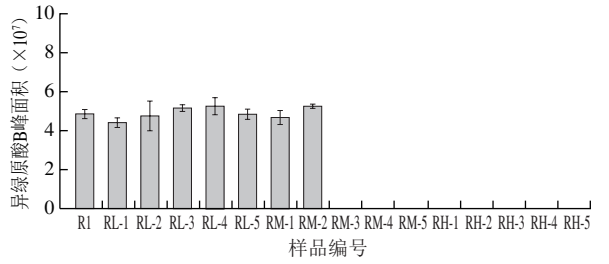
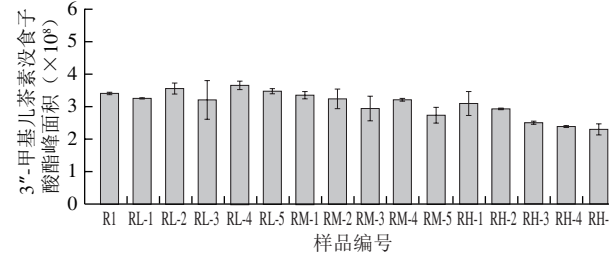
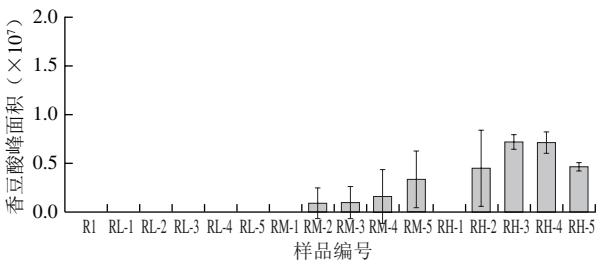
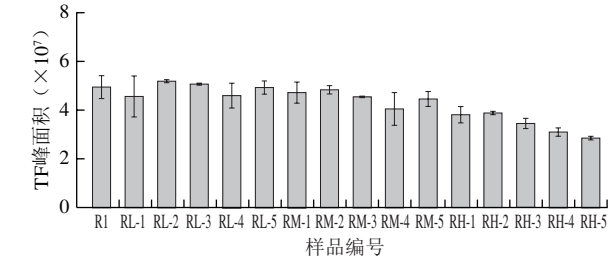
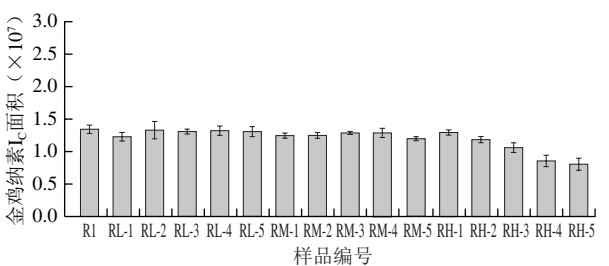
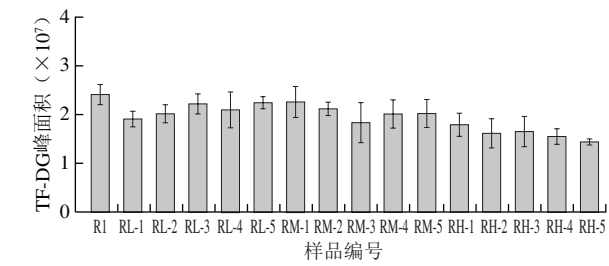
为进一步比较不同烘焙处理对武夷岩茶化学成分的影响,通过单因素方差分析从已鉴定的化合物中筛选出84种具有组间显著性差异的化合物($P<0.05$),包括儿茶素类、二聚儿茶素类、氨基酸类、生物碱、有机酸及黄酮糖苷类等多种化合物。进一步将这84种显著差异化合物导入MeV4.7.4软件进行热图聚类分析,结果如图2所示。

2.3.1 儿茶素类化合物

儿茶素约占所有茶多酚含量的60%~80%,是茶叶中最主要的多酚化合物,属于黄烷醇类。儿茶素因具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌等多种药理作用而被广泛研究^[26]。本研究中,随着焙火温度的升高及焙火时间的延长,儿茶素组分中,EC、ECG、EGC、EGCG、EGCG-3"Me、表阿夫儿茶精、表阿夫儿茶精-3-没食子酸酯含量均呈现不同程度的降低,如烘焙10 h时,样品中4种表型儿茶素(EC、ECG、EGC、EGCG)经高火处理其含量分别为低火处理样品的40.59%、70.05%、45.45%、79.84%,EC和EGC含量受温度影响相对较大;儿茶素含量却表现出增加的趋势,如在烘焙10 h后,高火处理和中火处理样品含量分别为低火处理样品的1.12倍和1.58倍(图3)。此外,在同一焙火温度下,随着时间延长儿茶素含量逐渐递增,烘焙10、8、6、4 h后儿茶素含量分别为烘焙2 h的1.40、1.36、1.26、1.22倍;这与前人研究结果^[27]一致,即茶叶在热处理过程中,部分儿茶素会在黄烷-3-醇的C-2位置发生异构化,表型儿茶素如EGCG、ECG、EGC、EC分别转换为非表型的GCG、CG、GC、儿茶素等。张蕾等^[3]研究也表明,随着焙火程度增加,EGC、EGCG、EC、ECG的含量均降低,而儿茶素、GCG含量增加;随着儿茶素类各组分发生氧化、异构化或生成新的化合物(如EPSF类)等一系列反应,茶汤苦涩味降低^[28],茶汤苦涩感与收敛性也相对减弱。







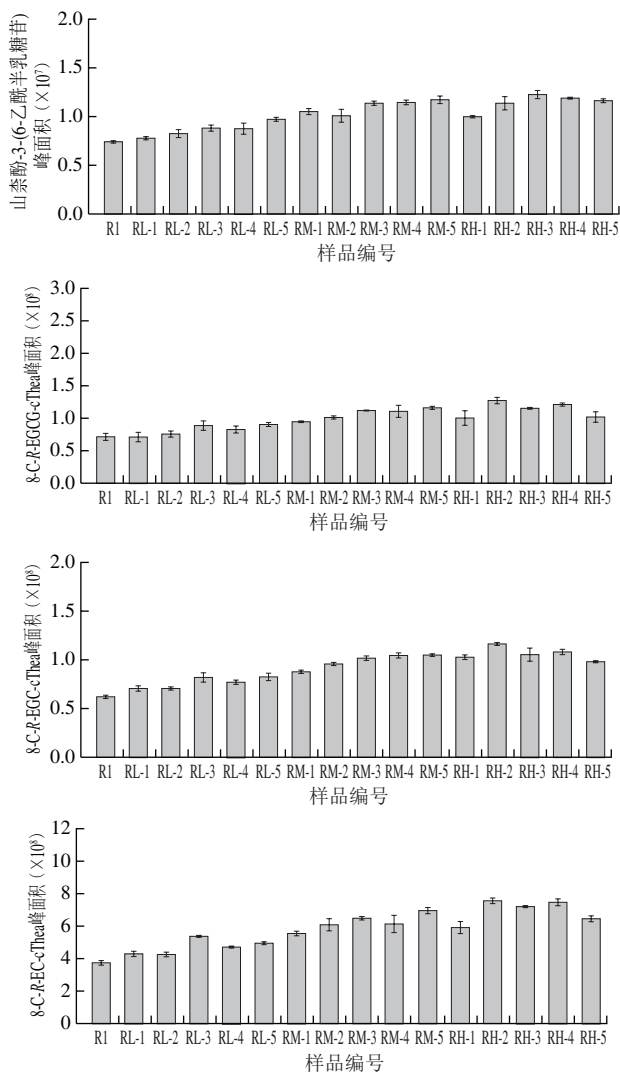


图3 不同烘焙处理武夷岩茶中代表性差异化合物的含量变化

Fig. 3 Variation in contents of representative compounds in Wuyi rock tea with different roasting degrees

2.3.2 二聚儿茶素类化合物

本研究共鉴定出14种二聚儿茶素类物质,其中5种在不同焙火处理样品间具有显著差异($P<0.05$),分别是TF、TF-DG、TF-3'-G、TF-3-G、聚酯型儿茶素B。有研究表明,茶叶在一定条件下,其叶片内儿茶素类化合物会发生一系列聚合、缩合等反应,逐步形成原花青素和聚酯型儿茶素等多种二聚儿茶素类产物^[29-30]。其中的聚酯型儿茶素包括聚酯型儿茶素A、聚酯型儿茶素B、聚酯型儿茶素C和聚酯型儿茶素F等。已有研究表明,随焙火程度增加,TF和茶红素的含量均显著降低^[3]。本研究发现,随着烘焙温度的升高和烘焙时间的延长,二聚儿茶素类产物TF、TF-DG、TF-3'-G、TF-3-G及聚酯型儿茶素B的含量均表现为降低的趋势(图3)。例如,在烘焙10 h后,高火处理与低火处理样品相比,上述5种化合物的含量分别减少了9.70%、13.70%、15.80%、9.80%、8.330%,中火处理与低火处理样品相比分别减

少了42.06%、38.61%、38.00%、35.80%、39.66%;高火条件下,在烘焙温度相同时,随着烘焙时间的延长,各化合物含量也呈降低趋势,与烘焙处理2 h相比,在烘焙10、8、6、4 h后聚酯型儿茶素B含量分别减少了6.47%、28.79%、34.47%、37.36%,TF-3'-G含量分别减少了8.36%、19.62%、19.24%、28.72%。

2.3.3 生物碱类化合物

咖啡碱和可可碱均属于甲基黄嘌呤生物碱,是茶叶中最主要的嘌呤生物碱。在茶汤中呈现苦味特征,对茶叶的滋味品质具有重要贡献^[31]。本研究中鉴定的生物碱类化合物包括咖啡碱、可可碱、胆碱、磷酸胆碱、腺嘌呤及一些核苷酸类物质如5'-甲硫腺苷、(S)-5'-脱氧-5'-甲硫腺苷等11种。咖啡碱和可可碱含量在不同焙火温度、焙火时间岩茶样品中变化不显著。而核苷酸类物质5'-甲硫腺苷、一磷酸腺苷等的含量在中火时(120℃)随着焙火时间的延长均表现出逐渐降低的趋势。咖啡碱含量较为稳定,随着焙火温度的升高其含量减少不显著^[32]。咖啡碱在低等级的肉桂岩茶中含量较高,因而低等级肉桂岩茶表现较为苦涩^[33]。

2.3.4 黄酮糖苷类化合物

黄酮糖苷是茶叶中重要的黄酮类化合物,具有良好的抗氧化活性,同时也是茶叶中重要的苦涩味成分,其味觉阈值较低,且对咖啡碱的苦味有一定的增强作用^[34]。黄酮糖苷按照苷元分类,可分为槲皮素苷、山柰酚苷、芹菜素苷和杨梅素苷^[35]。本研究鉴定出具有显著差异的黄酮糖苷类化合物共18种,其中芹菜素苷2种,包括芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷、芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷;杨梅素及糖苷2种,分别为杨梅素、杨梅素-3-O-半乳糖苷;山柰酚苷与槲皮素苷共14种,包括山柰酚、槲皮素、山柰酚-3-(6-乙酰半乳糖苷)、山柰酚-3-(6"-没食子酰葡萄糖苷)、山柰酚-3-阿拉伯糖苷、山柰酚-3-O-半乳糖酰芸香糖苷、山柰酚-7-(6"-没食子酰葡萄糖苷)、山柰酚-3-O-葡萄糖酰芸香糖苷、山柰酚-3-O-半乳糖苷、山柰酚-3-葡萄糖醛酸苷、山柰酚-O-芸香糖苷、槲皮素-3-O-葡萄糖酰芸香糖苷、槲皮素-3-O-芸香糖苷、槲皮素-3-O-半乳糖苷。

在本研究鉴定出的槲皮素苷、山柰酚苷、芹菜素苷和杨梅素苷4类黄酮糖苷中,芹菜素苷中的芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷、芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷,杨梅素苷中的杨梅素和杨梅素-3-O-半乳糖苷,以及山柰酚糖苷类化合物及槲皮素糖苷类化合物如山柰酚-3-葡萄糖醛酸苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷等含量均表现相同的变化规律,即在焙火温度达到高火程度(140℃)后,随着焙火时间的延长,含量大幅度降低;如与烘焙处理2 h相比,山柰酚-3-O-芸香糖苷含量在烘焙4、6、8、10 h后分别降低了8.11%、13.7%、16.38%、21.91%,山柰酚-3-O-半乳糖苷分别降低了29.53%、15.99%、28.11%、31.43%;而杨梅素、山柰酚、槲皮素等黄酮苷元却表现出相反的

含量变化趋势,即在高火处理时(140℃),随着焙火时间的延长含量增加,表明在高火处理过程中,岩茶中黄酮糖苷可能发生降解反应生成黄酮苷元。如在烘焙4、6、8、10 h后,杨梅素含量分别为烘焙2 h的1.66、2.34、2.62、3.19倍,槲皮素含量为烘焙2 h的1.74、2.25、2.72、2.91倍。研究表明,黄酮(醇)糖苷一般被认为是绿茶的重要呈色物质,具有涩味,是红茶、绿茶的主要涩味成分^[36-37],可以增强茶汤的苦涩口感^[38]。在本研究中,在高火阶段(140℃),黄酮(醇)糖苷类物质含量大幅度下降可能很大程度地降低茶汤的苦涩味。这也解释了武夷岩茶在高温焙火后茶汤苦涩味减低,滋味变平和、平淡的原因。

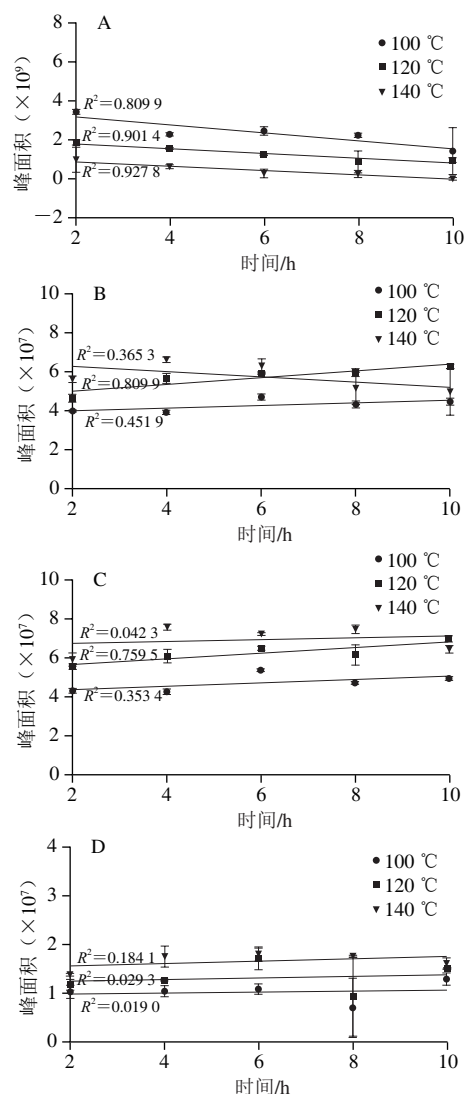
2.3.5 氨基酸和脂质类化合物

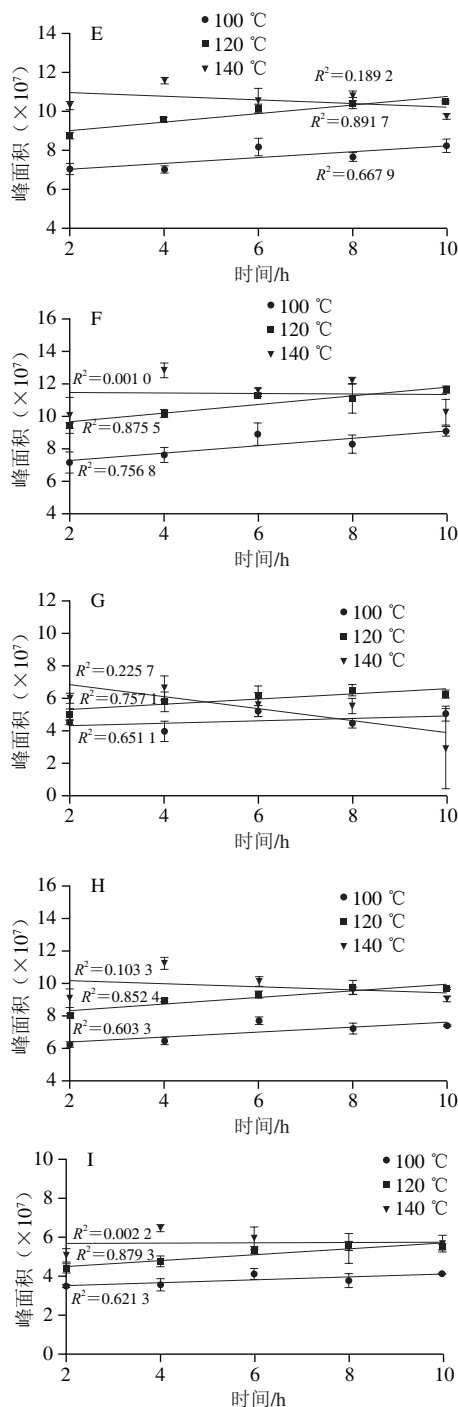
氨基酸是茶叶中的主要化学成分之一,游离氨基酸含量约占茶叶干质量的1%~4%,赋予了茶叶一定的鲜味和香气,同时使茶汤呈现鲜爽醇和的特征。一般认为氨基酸含量较高的茶叶具有较好的风味品质^[39-40]。本研究鉴定出具有显著差异的氨基酸组分中天冬酰胺、天冬氨酸、 γ -氨基丁酸、谷氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、茶氨酸、色氨酸及缬氨酸等含量在较高焙火温度(120℃以上)随着焙火时间的延长而降低(图3)。高温会促进糖与氨基酸发生美拉德反应,以及糖自身的焦糖化反应^[41]。这些成分的减少使茶汤鲜爽味减弱,茶汤“火工香”特征形成。徐邢燕等^[33]研究也发现,随着烘焙温度的升高和时间的延长,中、高等级中火武夷肉桂茶氨基酸组分含量极显著低于轻火茶,这与本研究结果一致。本研究中,经10 h烘焙处理,天冬酰胺在高火、中火处理样品中的含量分别为低火处理的54.53%、4.49%,谷氨酸在高火、中火处理样品中的含量分别为低火处理的47.75%、6.76%,*L*-精氨酸在高火、中火处理样品中的含量分别为低火处理的71.42%、9.16%。 γ -氨基丁酸、*L*-苯丙氨酸、脯氨酸、茶氨酸等在焙火温度达到140℃后其含量低于检出限而未检测出。另外,本研究中鉴定出具有显著差异的脂质共9种,包括LysoPC(18:3)、MG(18:0)、MG(18:3)、棕榈酸、脱镁叶绿酸b、焦脱镁叶绿酸a、植物鞘氨醇等。随着烘焙温度的升高和时间的延长,这些成分含量总体呈增加趋势(图3)。推测MG、LysoPC、棕榈酸等脂类含量的升高,可能是由于焙火过程中茶叶细胞膜破裂释放出磷脂双分子层中的脂类,因此含量升高;脱镁叶绿酸b、焦脱镁叶绿酸a含量升高可能是因为叶绿素a和b在焙火过程中降解,生成脱镁叶绿酸和焦脱镁叶绿酸。

2.3.6 EPSF类化合物

茶氨酸可通过Strecker降解和环化反应形成1-乙基-5-羟基-2-吡咯烷酮,该产物进一步在儿茶素的C6或C8位发生取代反应,形成EPSF化合物,该化合物具有*R*型和*S*型两种构型^[42]。近年来相继在不同种类的茶叶中被发现,尤其是在年份茶中具有较高含量,且具有良好生

物活性^[31,42-44]。本研究中不同烘焙处理武夷岩茶中共鉴定出15种EPSF类成分。经统计分析发现,其中8种在不同焙火处理组间具有显著差异,具体包括6-C-*R*-EC-cThea、8-C-*R*-EC-cThea、8-C-*R*-EGCG-cThea、8-C-*R*-EGCG-cThea、8-C-*R*-EGCG-cThea、8-C-*S*-EC-cThea等,除8-C-*R*-ECG-cThea外,其余EPSF类成分在烘焙温度达到120℃、烘焙时间达到4 h后含量显著增加。这与前人的研究结果^[43]一致,即高温烘焙会促进儿茶素类成分与茶氨酸发生反应形成EPSF类成分。此外,茶氨酸的降解产物1-乙基-5-羟基-2-吡咯烷酮与烘焙时间呈高度线性相关,在100、120、140℃烘焙温度下相关系数(R^2)分别为0.809 9、0.901 4、0.927 8,随着烘焙温度的升高,其含量明显下降(图4A)。通过对EPSF类8种差异化合物分析发现,在中、低火时,随着烘焙时间的延长,EPSF类化合物含量呈线性增加,且在同一烘焙时间下,温度越高EPSF类化合物含量越高;但EPSF类化合物在高火时(140℃)并不随烘焙时间的延长而含量增加,反而逐渐下降(图4B~I)。





A. 1-乙基-5-羟基-2-吡咯烷酮; B. 6-C-R-EC-cThea; C. 8-C-R-EC-cThea;
D. 8-C-R-ECG-cThea; E. 8-C-R-EGC-cThea; F. 8-C-R-EGCG-cThea;
G. 8-C-S-EC-cThea; H. 8-C-S-EGC-cThea; I. 8-C-S-EGCG-cThea。

图4 1-乙基-5-羟基-2-吡咯烷酮、EPSF类化合物相对含量与烘焙时间的相关性

Fig. 4 Correlation between relative contents of 1-ethyl-5-hydroxy-2-pyrrolidinone and EPSF compounds and roasting time of Wuyi rock tea

2.3.7 酚酸类化合物

酚酸是一类具有羧基和羟基的芳香族化合物，对于茶叶滋味也起着重要作用^[45]。在所鉴定的9种差异酚

酸类化合物中，3-香豆酰喹酸、异绿原酸A、异绿原酸B、小木麻黄素及茶没食子素、二没食子酰葡萄糖等成分随着烘焙温度的升高和烘焙时间的延长而降低，而菊苣酸、香豆酸、没食子酸随着烘焙温度的升高和烘焙时间的延长含量是呈增加的趋势，可能来自其他化合物在烘焙过程中的降解。其中，香豆酸在毛茶(R1)和低火(RL)样品中的含量低于检测限，而在中火处理后随着温度的升高含量逐渐增加，在高火处理中含量约为中火处理的3.4倍。

3 结论

采用基于UPLC-Q-Exactive/MS的代谢组学方法对不同烘焙处理的肉桂品种岩茶样品化合物进行系统分析，该方法准确全面地解析了不同烘焙处理条件下肉桂岩茶样品中144种化合物的含量差异，包括生物碱类、儿茶素类、二聚儿茶素类、氨基酸类、酚酸类、EPSF类、香气糖苷类、黄酮糖苷类及脂质类化合物等。通过PLS-DA模型发现不同烘焙处理肉桂岩茶的化学成分存在显著差异，并通过单因素方差分析筛选出具有组间显著性差异的化合物共84种($P < 0.05$)。热图聚类分析结果显示，绝大部分氨基酸类物质(天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酸、茶氨酸、苯丙氨酸等)，大部分儿茶素类(EGC、EC、ECG、EGCG等)、二聚儿茶素类(TF、聚酯型儿茶素)、生物碱类(5'-甲硫腺苷、磷酸腺苷等)、酚酸类(异绿原酸、木麻黄素、茶没食子素等)、大部分黄酮糖苷类化合物包括芹菜素糖苷(芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷、芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷等)、杨梅素糖苷(杨梅素-3-O-半乳糖苷等)、槲皮素糖苷(槲皮素-3-葡萄糖苷等)、山柰酚糖苷(山柰酚-3-葡萄糖醛酸苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷)等化合物在中火(120 °C)阶段随着焙火时间的延长含量下降，在高火(140 °C)阶段含量大幅度降低；大部分脂质类(MG(18:3)、MG(18:0)、LysoPC(18:3)、棕榈酸、脱镁叶绿酸b)、小部分黄酮糖苷类化合物(杨梅素、山柰苷、槲皮素以及山柰酚-3-(6-乙酰半乳糖苷)等)、部分有机酸类物质(焦谷氨酸、5-羟甲基-2-糠醛)达到中火(120 °C)后随着烘焙时间的延长，含量大幅度增加；中、低火烘焙时绝大部分EPSF类化合物随着烘焙时间的延长含量呈线性增加，在温度达到140 °C(高火)，随着烘焙时间的延长含量逐渐下降。推测正是由于具有滋味特征的风味物质不断散失(如绝大部分氨基酸类、大部分儿茶素类及黄酮糖苷类物质)，其他风味物质增加(大部分脂质类、部分有机酸类物质及EPSF类物质)，从而导致岩茶滋味品质在经过焙火后发生一定转变。通过对烘焙各样品感官评价，认为低温长时(100 °C、8~10 h)或中温短时

(120 ℃, 2~4 h) 烘焙有利于肉桂岩茶品质的提升。本研究采用代谢组学方法较为系统全面地阐明了肉桂岩茶在不同焙火温度和时间条件下化学物质的差异, 为武夷岩茶品质研究及焙火工艺优化提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 陈泉宾. 烘焙对福建水仙乌龙茶中糖氨Maillard反应的影响[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(21): 81-86. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2020.21.014.
- [2] 詹宝珍, 吴志锋, 马春, 等. 焙火时间对武夷岩茶肉桂香气品质的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(3): 811-819.
- [3] 张蕾, 林燕清, 罗理勇, 等. 焙火程度对武夷岩茶品质特性的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(9): 41-46. DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2017.09.009.
- [4] 翁睿. 不同炭焙程度对武夷水仙茶的品质影响[D]. 福州: 福建农林大学农业大学, 2016: 18-27. DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2017.09.009.
- [5] 林燕萍, 张见明, 黄莹蓉, 等. 温控炭焙对武夷岩茶生化品质的影响[J]. 宜春学院学报, 2014, 36(12): 107-110. DOI:10.3969/j.issn.1671-380X.2014.12.044.
- [6] 张丽, 张蕾, 罗理勇, 等. 焙火工艺对武夷岩茶挥发性组分和品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(7): 186-193. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.013418.
- [7] 何杉杉, 彭禹熙, 王晓蕊, 等. 不同焙火程度的武夷岩茶挥发性成分分析研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(20): 186-192. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2020.20.031.
- [8] 林永胜, 罗婵玉, 陈忠林, 等. 不同精制烘焙工艺对武夷岩茶品质的影响[J]. 福建茶叶, 2016, 38(4): 7-10. DOI:10.3969/j.issn.1005-2291.2016.04.004.
- [9] 黄毅彪, 林燕萍, 张见明, 等. 焙火方式对武夷岩茶瑞香品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(11): 124-128. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2020.11.021.
- [10] LIU X B, LIU Y W, LI P, et al. Chemical characterization of Wuyi rock tea with different roasting degrees and their discrimination based on volatile profiles[J]. RSC Advances, 2021, 11: 12074-12084. DOI:10.1039/d0ra09703a.
- [11] 林燕萍, 龙乐, 张见明, 等. 不同火功处理的武夷岩茶“白鸡冠”品质差异探究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(9): 90-94. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2020.17.014.
- [12] 陈金华, 王英姿, 黄建安, 等. 不同烘焙温度对大红袍香气成分的影响[J]. 茶叶通讯, 2020, 47(3): 433-441. DOI:10.3969/j.issn.1009-525X.2020.03.011.
- [13] 石晶, 陈荣冰. 炭焙对武夷岩茶黄观音生化成分及感官品质的影响分析[J]. 广东蚕业, 2021, 53(8): 46-48. DOI:CNKI:SUN:GD CY.0.2019-08-025.
- [14] YANG S T, WU X, RUI W, et al. UPLC/Q-TOF-MS analysis for identification of hydrophilic phenolics and lipophilic diterpenoids from radix salviae miltiorrhizae[J]. Acta Chromatographica, 2015, 27(4): 711-728. DOI:10.1556/ACHrom.27.2015.4.9.
- [15] PI J J, WU X, YANG S T, et al. Rapid identification of erythrocyte phospholipids in Sprague-Dawley rats by ultra high performance liquid chromatography with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2015, 38(6): 886-893. DOI:10.1002/jssc.201401120.
- [16] SONG J N, ZHAO L L, RUI W, et al. Identification and fragmentation pattern analysis of iridoid glycosides from *Fructus ligustri lucidi* by UPLC/ESI-QTOF-MS[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2014, 37(12): 1763-1770. DOI:10.1080/10826076.2013.809544.
- [17] 赵丹, 杜仁鹏, 刘鹏飞, 等. 代谢组学在乳酸菌发酵食品研究中的应用[J]. 中国农学通报, 2015, 31(8): 240-244. DOI:CNKI:SUN:ZN TB.0.2015-08-044.
- [18] 韩沙沙, 郑伟, 南易, 等. 基于UPLC-Q-TOF/MSE 技术分析武夷岩茶的化学成分[J]. 现代食品科技, 2022, 38(6): 234-247. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.6.0962.
- [19] CHEN S, LI M H, ZHENG G Y, et al. Metabolite profiling of 14 Wuyi rock tea cultivars using UPLC-QTOF MS and UPLC-QqQ MS combined with chemometrics[J]. Molecules, 2018, 23: 104. DOI:10.1016/j.msec.2017.08.009.
- [20] XU K, TIAN C Y, ZHOU C Z, et al. Non-targeted metabolomics analysis revealed the characteristic non-volatile and volatile metabolites in the Rougui Wuyi rock tea (*Camellia sinensis*) from different culturing regions[J]. Foods, 2022, 11: 1694. DOI:10.3390/foods11121694.
- [21] YANG P, SONG H L, LIN Y P, et al. Differences of characteristic aroma compounds in Rougui tea leaves with different roasting temperatures analyzed by switchable GC-O-MS and GC × GC-O-MS and sensory evaluation[J]. Food & Function, 2021, 12: 4797-4807. DOI:10.1039/D1FO00165E.
- [22] 徐邢燕. 基于代谢组学的武夷肉桂茶不同烘焙程度、等级及地域品质差异研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2020: 18-23.
- [23] 曾彬, 刘红梅, 刘晓梅, 等. UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS技术在中药分析中的应用[J]. 中药材, 2020, 43(9): 2312-2318. DOI:10.13863/j.issn1001-4454.2020.09.045.
- [24] 陈丹, 赵燕妮, 彭佳堃, 等. 基于代谢组学的不同年份晒青红茶化学成分分析[J]. 食品科学, 2022, 43(4): 150-159. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210325-314.
- [25] 陈勤操, 戴伟东, 藺志远, 等. 代谢组学解析遮阴对茶叶主要品质成分的影响[J]. 中国农业科学, 2019, 52(6): 1066-1077. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2019.06.010.
- [26] YANG C, HU Z Y, LU M L, et al. Application of metabolomics profiling in the analysis of metabolites and taste quality in different subtypes of white tea[J]. Food Research International, 2018, 106: 909-919. DOI:10.1016/j.foodres.2018.01.069.
- [27] WU L Y, HUANG X J, LIU S R, et al. Understanding the formation mechanism of Oolong tea characteristic non-volatile chemical constituents during manufacture process by using integrated widely-targeted metabolome and DIA proteome analysis[J]. Food Chemistry, 2020, 310: 125941. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.125941.
- [28] YUZO M, YUSUKE S, YUICHI Y. Changes in the concentrations of acrylamide, selected odorants, and catechins caused by roasting of green tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(6): 2154-2159. DOI:10.1021/jf0731806.
- [29] 岳文杰, 金心怡, 陈明杰, 等. 基于非靶向代谢组学分析白茶室内自然萎凋过程代谢物的变化规律[J]. 茶叶科学, 2021, 41(3): 379-392. DOI:10.13305/j.cnki.jts.20210304.001.
- [30] 李大祥, 宛晓春, 杨昌军, 等. 茶儿茶素氧化机理[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(1): 171-181. DOI:10.3969/j.issn.1001-6880.2006.01.041.
- [31] DAI W D, LOU N, XIE D C, et al. N-Ethyl-2-pyrrolidinone-substituted flavan-3-ols with anti-inflammatory activity in lipopolysaccharide-stimulated macrophages are storage-related marker compounds for green tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(43): 12164-12172. DOI:10.1021/acs.jafc.0c03952.
- [32] 江山, 宁井铭, 方世辉, 等. 焙火温度对条形乌龙茶品质的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2012, 39(2): 221-224. DOI:CNKI:34-1162/S.20120229.1419.006.

- [33] 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, 2021, 41(13): 22-28. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190619-220.
- [34] GUO X Y, LV Y Q, YE Y, et al. Polyphenol oxidase dominates the conversions of flavonol glycosides in tea leaves[J]. Food Chemistry, 2021, 339: 128088. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128088.
- [35] FANG Z T, SONG C J, XU H R, et al. Dynamic changes in flavonol glycosides during production of green, yellow, white, oolong and black teas from *Camellia sinensis* L. (cv. Fudingdabaicha)[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2019, 54(2): 490-498. DOI:10.1111/ijfs.13961.
- [36] 张英娜. 绿茶茶汤主要儿茶素呈味特性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016: 46-58. DOI:CNKI:CDMD:2.1016.171355.
- [37] SCHARBERT S, HOLZMANN N, HOFMANN T. Identification of the astringent taste compounds in black tea infusions by combining instrumental analysis and human bioresponse[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2004, 52(11): 3498-3508. DOI:10.1021/jf049802u.
- [38] SCHARBERT S, HOFMANN T. Molecular definition of black tea taste by means of quantitative studies, taste reconstitution, and omission experiments[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2005, 53(13): 5377-5384. DOI:10.1021/jf050294d.
- [39] YAO L H, LIU X, JIANG Y M, et al. Compositional analysis of teas from Australian supermarkets[J]. Food Chemistry, 2006, 94(1): 115-122. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.11.009.
- [40] JABEEN S, ALAM S, SALEEM M, et al. Withering timings affect the total free amino acids and mineral contents of tea leaves during black tea manufacturing[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2019, 12(8): 2411-2417. DOI:10.1016/j.arabjc.2015.03.011.
- [41] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2003: 8-39; 209-210.
- [42] 解东超, 戴伟东, 林智, 等. 年份白茶中EPSF类成分研究进展[J]. 中国茶叶, 2019, 41(3): 7-10. DOI:CNKI:SUN:CAYA.0.2019-03-002.
- [43] ZHANG P, WANG W, LIU X H, et al. Detection and quantification of flavoalkaloids in different tea cultivars and during tea processing using UPLC-TOFMS/MS[J]. Food Chemistry, 2021, 339: 127864. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.127864.
- [44] XIE D C, DAI W D, LU M L, et al. Non-targeted metabolomics predicts the storage duration of white teas with 8-C *N*-ethyl-2-pyrrolidinone-substituted flavan-3-ols as marker compounds[J]. Food Research International, 2019, 125: 108635. DOI:10.1016/j.foodres.2019.108635.
- [45] SHU K, KENJI K, HIDEKI M, et al. Molecular and sensory studies on the umami taste of Japanese green tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(7): 2688-2694. DOI:10.1021/jf0525232.