基于代谢组学技术分析不同季节茶树鲜叶对湖红工夫茶风味品质的影响

张倩婷[1,2]，张　山[2]，江用文[2]，陈　乐[2,3]，单旭江[2]，牛林池[2]，冯宇宁[2,3]，滑金杰[2]，袁海波[2]，李　佳[2,*]，芦俊佳[1,*]
（1.西南林业大学园林园艺学院，云南 昆明　650224；2.中国农业科学院茶叶研究所，浙江省茶叶加工工程重点实验室，浙江 杭州　310008；3.浙江工业大学环境学院，浙江 杭州　310014）

摘　要：为深入探讨不同季节茶树鲜叶对湖红工夫茶风味品质的影响，本研究选取长沙地区3 种典型无性系茶树品种的春、夏季一芽二叶鲜叶，采用相同的加工工艺制成湖红工夫茶。通过人工感官审评评价所制春、夏季成品茶的风味品质差异。利用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱结合非靶向代谢组学分析和多元统计分析，解析春、夏季鲜叶非挥发性成分的关键差异及其对成品茶品质的影响。感官审评结果显示，春季鲜叶所制湖红工夫茶风味品质优于夏季，特别是滋味品质。代谢组学分析显示，春、夏两季茶鲜叶代谢轮廓存在差异。基于$P<0.05$和变量投影重要性值＞1，筛选出40 种关键差异代谢物。代谢通路分析显示，黄酮（醇）苷代谢途径、类黄酮代谢途径、氨基酸代谢途径等为重要差异代谢通路。甜、鲜味氨基酸（茶氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺等）以及具有促鲜效应的酚酸类物质（没食子酰基葡萄糖、双没食子酰基葡萄糖、三没食子酰基葡萄糖等）在春季成品茶中的含量显著较高，而苦味氨基酸（亮氨酸、赖氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸）在夏季成品茶中的含量较高。此外，黄酮（醇）苷类物质根据苷元特征在春夏两季呈现不同的分布趋势，黄酮-*C*-糖苷、杨梅素-*O*-糖苷、槲皮素-*O*-糖苷在夏季成品茶中的含量较高，而山柰酚-*O*-糖苷则在春季成品茶中的含量更高。本研究结果可为湖红工夫茶的品质提升与调控提供理论支持。

关键词：红茶；茶鲜叶；代谢组学；季节；风味品质；湖红工夫茶

Untargeted Metabolomics Revealed the Effects of Fresh Tea Leaves Plucked in Different Seasons on the Flavor Quality of Huhong Congou Black Tea

ZHANG Qianting[1,2], ZHANG Shan[2], JIANG Yongwen[2], CHEN Le[2,3], SHAN Xujiang[2], NIU Linchi[2], FENG Yuning[2,3], HUA Jinjie[2], YUAN Haibo[2], LI Jia[2,*], LU Junjia[1,*]
(1. College of Landscape and Horticulture, Southwest Forestry University, Kunming　650224, China; 2. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Tea Processing Engineering, Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou　310008, China; 3. College of Environment, Zhejiang University of Technology, Hangzhou　310014, China)

Abstract: To explore the influence of fresh tea leaves harvested in different seasons on the flavor quality of Huhong Congou black tea, we selected young tea shoots with one bud and two leaves from three typical clonal varieties in Changsha plucked in spring and summer to produce Huhong Congou black tea using the same processing technology. The differences in flavor quality between black tea made from spring and summer tea leaves were evaluated by sensory evaluation. Non-targeted metabolomics analysis based on ultra-high performance liquid chromatography-Q Exactive-mass spectrometry (UPLC-Q Exactive-MS) and multivariate statistical analysis were integrated to analyze the key differential non-volatile constituents between the spring and summer tea leaves and their influence on the quality of Congou black tea. The results of sensory

收稿日期：2024-08-17
基金项目：国家茶叶产业技术体系红茶加工岗位项目（CARS-19）；中国农业科学院科技创新工程项目（CAAS-ASTIP-TRICAAS）
第一作者简介：张倩婷（1997—）（ORCID: 0009-0006-2125-1257），女，硕士研究生，研究方向为茶叶品质化学与调控。E-mail: zhangqianting@tricaas.com
*通信作者简介：李佳（1986—）（ORCID: 0000-0002-9278-0862），女，副研究员，博士，研究方向为茶叶品质化学与调控。E-mail: jiali1986@tricaas.com
芦俊佳（1983—）（ORCID: 0009-0009-6791-8661），女，副教授，博士，研究方向为园林园艺植物病害综合防治。E-mail: 58826911@qq.com

evaluation showed that the flavor quality of Huhong Congou black tea produced in spring was better than that in summer, especially in taste quality. Metabolomics analyses showed differences in the metabolic profiles of tea leaves plucked in spring and summer. Forty key differential metabolites were selected based on $P < 0.05$ and variable importance in projection (VIP) value > 1, mainly involved in flavonoid biosynthesis, flavone and flavonol biosynthesis and amino acid metabolism pathways. The contents of sweet and umami amino acids (theanine, glutamic acid, and glutamine) as well as phenolic acids (digalloylglucose, trigalloyl glucopyranose, and galloylglucose) with umami-enhancing effect were significantly higher in the spring tea, whereas the contents of bitter amino acids (leucine, lysine, tyrosine and phenylalanine) were higher in the summer tea. In addition, flavonols and flavone/flavonol glycosides showed different distribution trends in the spring and summer teas; flavone-*C*-glycosides, myricetin-*O*-glycosides, and quercetin-*O*-glycosides were more abundant in the summer tea, whereas kaempferol-*O*-glycosides were more abundant in the spring tea. This study provides theoretical support for the quality enhancement and regulation of Huhong Congou black tea.

Keywords: black tea; fresh tea leaves; metabolomics; season; flavor quality; Huhong Congou black tea

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240817-124

中图分类号：TS272 文献标志码：A 文章编号：1002-6630（2025）07-0195-11

引文格式：

张倩婷, 张山, 江用文, 等. 基于代谢组学技术分析不同季节茶树鲜叶对湖红工夫茶风味品质的影响[J]. 食品科学, 2025, 46(7): 195-205. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240817-124. http://www.spkx.net.cn

ZHANG Qianting, ZHANG Shan, JIANG Yongwen, et al. Untargeted metabolomics revealed the effects of fresh tea leaves plucked in different seasons on the flavor quality of Huhong Congou black tea[J]. Food Science, 2025, 46(7): 195-205. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240817-124. http://www.spkx.net.cn

红茶是世界范围内产销量最高的茶类，约占所有茶类产销总量的78%[1]。红茶分为小种红茶、工夫红茶和红碎茶三大类[2]。其中，工夫红茶是我国特有的茶叶类别，经过萎凋、揉捻、发酵、干燥等工艺精制而成[3]，因其外形紧秀、色泽乌润、汤色红亮、滋味甜醇、甜香馥郁[4]，受到消费者的广泛喜爱。工夫红茶富含多种有益的生化成分，如黄烷醇、酚酸、有机酸、黄酮（醇）苷、生物碱、氨基酸等，具有抗氧化、抗菌、抑制肥胖、增强免疫力等保健功效[5]。工夫红茶种类繁多，根据产地的不同，可以分为祁红工夫、宜红工夫、粤红工夫、宁红工夫、滇红工夫、湖红工夫等多个类别[6-7]。湖南是我国重要的产茶省，茶叶产地遍布湘南、湘西、湘北、湘中等90多个县（市、区），所产的湖红工夫茶清香厚味、香高味醇，是我国工夫红茶的优质代表[8]。长沙位于湖南省中部，因其优越的地理位置及适宜的气候环境，是优质湖红工夫茶的重要产地之一[8-10]。

近年来，研究者们围绕湖红工夫茶开展了一系列的研究。例如，银霞等[11-12]采用高效液相色谱法和挥发物组学方法研究了茶树鲜叶与湖红工夫茶品质之间的相关性。黄浩等[10]运用高效液相色谱法及常规组分测定法，解析了不同产地湖红工夫茶化学成分及品质的差异。卢丹敏等[13]通过感官审评与理化成分分析，构建了不同等级湖南红茶的分类判别模型。粟本文等[14]研究了兰花香、奶花香和岩花香3 种香型湖红工夫茶的特征香气成分。Yin Xia等[15-16]分析了湖红工夫茶特征香气成分以及摇青工艺对其香气品质的影响。Wang Kuofei等[17]研究了不同等级鲜叶原料对湖红工夫茶滋味和香气品质的影响。综上可知，关于湖红工夫茶的研究主要集中在等级、产地、香型、工艺差异等方面，但是有关采摘季节对茶树鲜叶的化学成分和所制湖红工夫品质的影响研究较少。

茶叶风味品质受到自然环境、鲜叶品种、嫩度、采摘季节、加工工艺等多种因素的影响，其中采摘季节是影响茶叶风味品质形成的关键影响因素之一。有研究表明，茶黄素[18]、游离氨基酸[19]、茶多酚[19]及可溶性糖[20]等物质含量在不同季节鲜叶制得红茶中存在显著差异，成品工夫红茶在感官审评上差异较大，整体上春季鲜叶制成的红茶风味品质高于夏季红茶和秋季红茶[21]。Dai Weidong等[22]基于代谢组学技术解析了不同采摘季节鲜叶成分的差异，以及所制成品红茶的风味品质特点。综上，茶叶风味品质的形成取决于茶树鲜叶原料中生化成分的差异。目前，关于不同季节茶树鲜叶原料对红茶品质成分影响的研究多基于高效液相色谱法及其他常规成分测定法，具有一定的局限性。目前，基于代谢组学的湖南长沙地区春、夏两季鲜叶内质成分差异分析及其对湖红工夫茶风味品质影响的相关研究鲜有报道。

代谢组学技术能够对复杂样本中的小分子物质进行全面、快速的定性和定量检测，具有高灵敏和检测范围广的优势，在食品科学、园艺植物等领域广泛应用[23-25]。

以往的研究证实，代谢组学技术是茶叶加工及品质化学研究的有利手段。研究者们利用该技术研究了不同茶叶等级[2]、不同加工工艺[3]、不同茶树品种[26]等对茶叶风味品质的影响，探究了茶叶加工过程中的品质形成机理。

基于此，本研究选取湖红工夫茶重要产区长沙的典型茶树品种，采集春、夏两季相同嫩度的鲜叶原料进行代谢组学分析，并将其加工成红茶进行风味品质感官审评，探究春、夏季茶树鲜叶内质成分的差异及其对湖红工夫茶风味品质的影响，以期为后续湖红工夫茶风味品质的提升提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验材料为湖南长沙地区（北纬28°13′41″，东经112°56′20″）槠叶齐、尖波黄13号、湘波绿2号的鲜叶原料，采摘嫩度为一芽二叶，采摘时间为4月（春季）和8月（夏季）。

甲酸（色谱纯） 美国Sigma-Aldrich公司；甲醇、乙腈（均为色谱纯） 德国默克公司；超纯水由纯水机（Milli-Q系统）制备。

1.2 仪器与设备

超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱（ultra-high performance liquid chromatography-Q-Exactive-mass spectrometry，UPLC-Q Exactive-MS） 美国赛默飞世尔科技公司；6CR-35型茶叶揉捻机、6CTH-6型箱式热风干燥机 浙江上洋机械有限公司；PRX-450D型人工气候培养箱 宁波普朗特仪器有限公司；TubeMill100控制型茶样研磨器 德国IKA公司；5810R型高速离心机 德国Eppendorf公司；BeyoVortex型调速式涡旋混匀仪 上海碧云天生物技术股份有限公司；纯水机（Milli-Q系统） 美国Millipore公司。

1.3 方法

1.3.1 制茶流程

茶叶制作流程参照Zhang Shan等[4]的方法。首先将茶树鲜叶均匀摊放于竹篾上，摊放厚度约为1～2 cm，环境温度约为26 ℃、相对湿度约为70%，萎凋至茶叶含水量降至约62%。然后将萎凋叶放至揉捻机中揉捻75 min。随后将揉捻叶统一堆放在人工气候箱（温度30 ℃、相对湿度90%）中发酵3～4 h。最后将发酵叶置于温度箱式烘干机中进行毛火干燥（110 ℃，30 min）；摊凉后，90 ℃进行足火干燥（20 min）。成品茶含水率约为5%左右。

1.3.2 茶叶的感官审评

茶叶感官审评参照国标GB/T 23776—2018《茶叶感官审评方法》。感官审评专家小组由2 名女性、3 名男性组成。首先将200 g茶样置于白色方形盘中进行把盘和干茶外观评价。准确称取3 g茶样置于审评杯中，用150 mL沸水冲泡5 min，再将茶汤过滤至碗中，依次对茶叶汤色、香气、滋味和叶底进行评价。茶叶综合得分按照各项因子得分，使用加权法进行赋分，按下式计算：

综合得分＝外观（25%）＋汤色（10%）＋香气（25%）＋滋味（30%）＋叶底（10%）

1.3.3 代谢组学分析

参照Zeng Lin[25]和Li Jia[26]等的方法。长沙春夏两季茶树鲜叶样品研磨过筛后，准确称取（10.0±0.1）mg至离心管中，加入1 mL体积分数为70%的甲醇溶液，经超声提取后在14 000 r/min条件下高速离心10 min，取上清液用超纯水稀释至合适浓度后进样分析。每个茶样进行3 次重复提取。

使用UPLC-Q Exactive-MS对长沙春夏季鲜叶样品进行非靶向代谢组学分析。仪器配备Waters T3色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相A为体积分数0.1%甲酸溶液，流动相B为体积分数0.1%甲酸-乙腈溶液；流动相流速为0.35 mL/min，柱温为35 ℃。洗脱程序：0～2 min，95% A、5% B；2～3 min，95%～88% A、5%～12% B；3～10 min，88%～75% A、12%～25% B；10～12 min，75%～2% A、25%～98% B；12～13 min，2% A、98% B；13～15 min，2%～95% A、98%～5% B。高分辨全扫描质谱数据（*m/z* 100～1 000）分别在电喷雾离子源（electro spray ionization，ESI）的正、负离子模式下获得。通过精确质量、二级质谱结合标准品验证进行代谢物鉴定。

1.4 数据处理及统计分析

采用Xcalibur 4.1软件通过高分辨率离子色谱图提取已识别代谢物的峰面积，获得包含峰面积强度、质荷比（*m/z*）和保留时间（retention time，RT）。利用质量控制样品进行重复性评价，保留相对标准偏差（relative standard deviation，RSD）＜20%的物质进行后续分析。使用SIMCA-P 14.1软件进行偏最小二乘判别分析（partial least squares-discriminant analysis，PLS-DA）、层次聚类分析（hierarchical clustering analysis，HCA）、变量投影重要性（variable importance in projection，VIP）分析和PLS模型相关性分析。分别利用TBtools-II、GraphPad Prism软件绘制热图、柱状图。采用SPSS 26.0软件进行成对样本*T*检验（$P<0.05$，差异显著）。利用在线工具（https://www.metaboanalyst.ca/）进行代谢通路富集分析，并参照京都基因与基因组百科全书网站（https://www.kegg.jp/）进行通路分析。

2 结果与分析

2.1 春、夏季湖红工夫茶感官品质的差异

如表1所示，以春、夏两季鲜叶为原料，采用相同工艺制得的湖红工夫茶在感官品质上（包括外观、汤色、香气、滋味、叶底和综合得分）均存在显著差异

表 1　春、夏季鲜叶为原料所制湖红工夫茶感官品质的差异

Table 1　Differences in sensory quality Huhong Congou black teas made from spring and summer tea leaves

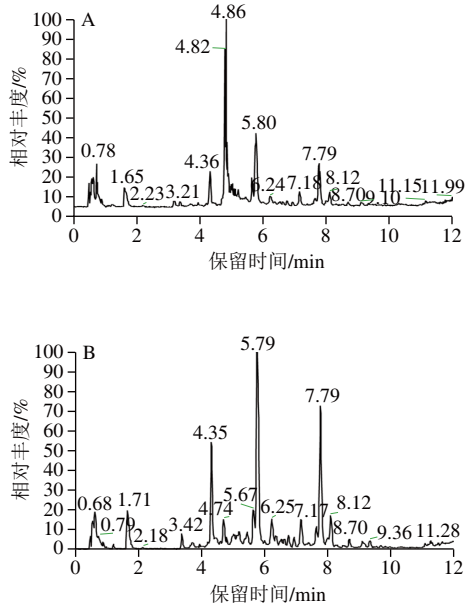
季节	外观		汤色		香气		滋味		叶底		综合得分
	评语	得分	评语	得分	评语	得分	评语	得分	评语	得分	
春季	乌润、紧结、匀称、带金毫	88.8±2.0^a	红明亮	85.3±0.2^a	甜香、纯正	90.2±0.9^a	甜醇带鲜	91.2±1.8^a	红亮	90.9±0.7^a	89.7±1.3^a
夏季	尚乌、尚紧、欠匀	82.5±0.5^b	红黄明亮	82.7±0.4^b	甜香、尚纯	84.6±2.0^b	尚醇带苦涩	84.4±1.8^b	尚红亮	87.4±1.2^b	84.1±1.1^b

注：同列不同字母表示差异显著（$P<0.05$）。

（$P<0.05$）。外观方面，春茶紧结匀称、色泽乌润、带金毫，夏茶条索尚紧、色泽尚乌、欠匀整。汤色方面，春茶汤色红明亮，夏茶汤色较春茶稍欠，为红黄明亮。在香气特征上，春夏两种茶样都带甜香，但春茶香气更为纯正。滋味方面，春夏两季样品整体滋味为甜醇带鲜，但夏茶较春茶尚醇且稍带苦涩味。叶底方面，春茶叶底红亮，夏茶尚红亮。综上，春季鲜叶制得湖工工夫茶在外观、汤色、香气、滋味和叶底方面均显著优于夏季鲜叶所制红茶。整体上，春季鲜叶制得的湖红工夫茶得分为89.7 分，显著优于夏茶（84.1 分）。

2.2　春、夏季茶树鲜叶代谢轮廓差异

为了准确、客观地对两个季节茶树鲜叶内质成分进行表征，基于高分辨质谱技术进行了代谢组学分析。如图1A、B所示，代谢物在ESI（＋）、ESI（－）模式下均较好地分离。根据*m/z*、二级质谱和RT共鉴定出96 种非挥发性化合物，包括氨基酸类17 种、酚酸14 种、黄酮（醇）苷31 种（包括黄酮醇-*O*-糖苷20 种和黄酮-*C*-糖苷11 种）、黄烷醇及其衍生物18 种、生物碱类3 种、糖类3 种、有机酸类6 种和其他类物质4 种（图1C）。如图1D所示，上述代谢物在质控样本中的RSD均小于20%，且RSD＜10%的样本占总样本数量的88%，表明该研究中代谢组学分析稳定可靠。



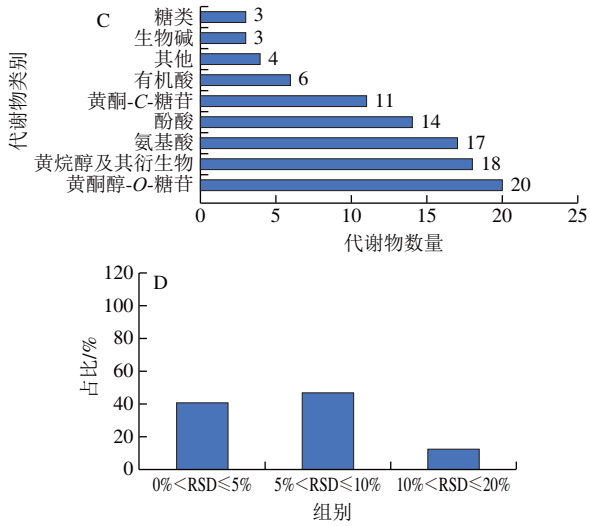
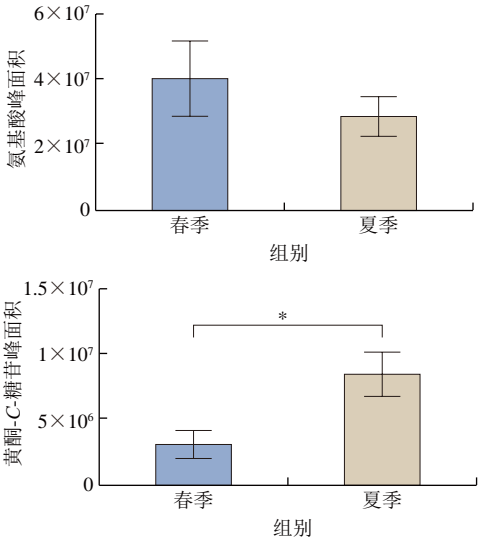
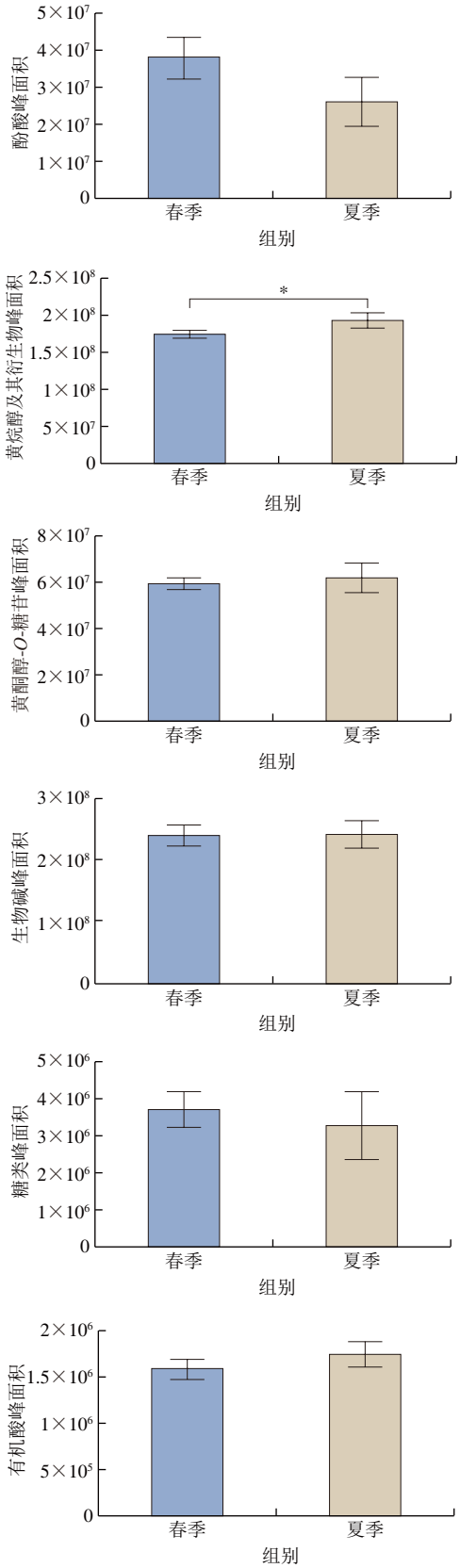


图 1　ESI（＋）（A）和ESI（－）（B）模式下的总离子流色谱图、鉴定代谢物分类（C）和重复性评价（D）

Fig. 1　Typical total ion current chromatograms acquired in ESI (+) (A) and ESI (−) (B) modes, classification of identified compounds (C) and repeatability evaluation of identified compounds (D)

如图2所示，春、夏季茶树鲜叶中各类代谢物总量存在差异。具体而言，氨基酸、酚酸和糖类物质在春季茶鲜叶中含量较高；黄酮醇-*O*-糖苷、黄酮-*C*-糖苷、黄烷醇及其衍生物及有机酸类物质在夏季茶鲜叶中含量较高，尤其是黄酮-*C*-糖苷、黄烷醇及其衍生物在夏季茶鲜叶中的含量显著高于春茶（$P<0.05$）。



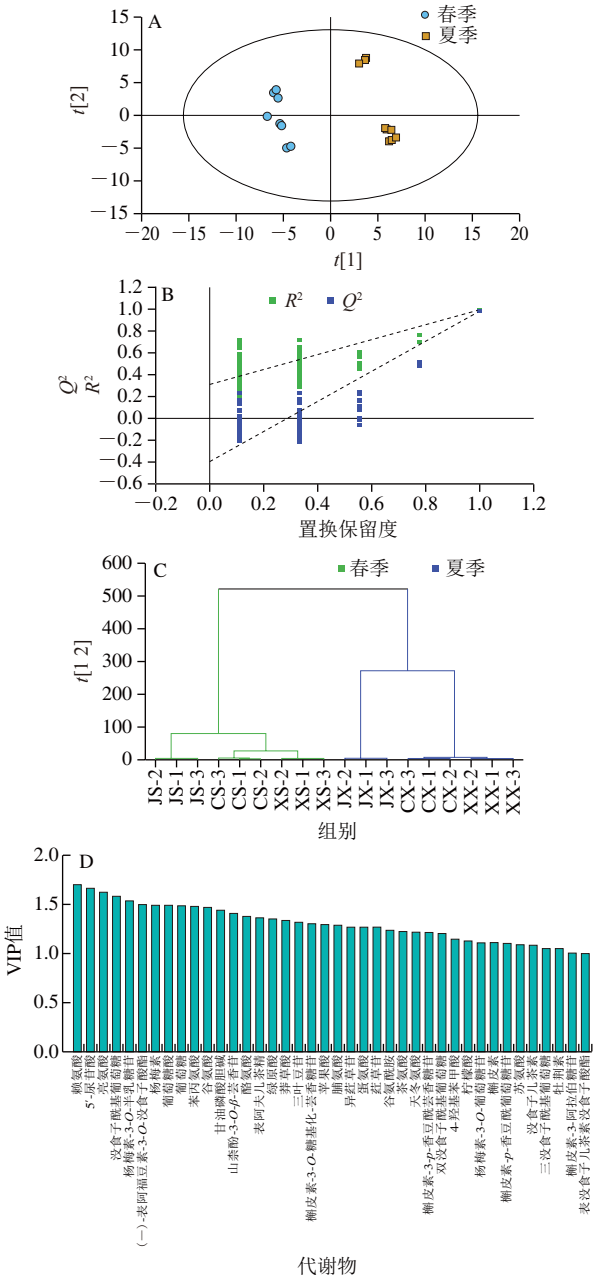


*.差异显著（$P<0.05$）。

图 2 春、夏季茶树鲜叶各类代谢物总量比较

Fig. 2 Comparison of the total amounts of various metabolites in fresh tea leaves in spring and summer

对春、夏两季茶树鲜叶的代谢组学数据进行多元统计分析。如图3A所示，春、夏季样品在主成分1上明显区分，表明两者间代谢轮廓存在明显差异。PLS-DA模型参数$R_X^2=0.572$，$R_Y^2=0.993$，$Q^2=0.98$，证明该模型的解释及预测能力较强。基于200 次检验的置换检验结果显示，截距参数R^2为0.305、Q^2为−0.406（图3B），进一步证明了PLS-DA模型具有较高的可靠性。HCA结果表明，春、夏季两季茶树鲜叶样品被明显地分区分开（图3C）。



A. PLS-DA模型得分图；B.置换检验图；C. HCA；D. VIP值＞1的代谢物。XS、CS、JS.分别为湘波绿2号、槠叶齐、尖波黄13号春季茶；XX、CX、JX.分别为湘波绿2号、槠叶齐、尖波黄13号夏季茶；下同。

图 3 春、夏季茶树鲜叶多元统计分析

Fig. 3 Multivariate statistical analysis of fresh tea leaves in spring and summer

2.3　春、夏季茶树鲜叶关键差异化合物分析

基于PLS-DA模型，筛选出40 种VIP值大于1的物质（图3D），40 个物质在春、夏两季茶鲜叶中均具有显著差异（$P<0.05$）。40 种关键差异化合物，包括氨基酸类物质11 种、酚酸类物质5 种、黄酮（醇）苷类物质13 种、黄烷醇物质4 种、糖类物质1 种、有机酸类物质4 种和其他类物质2 种（表2）。

表 2　春、夏季茶树鲜叶中鉴定的差异化合物

Table 2　Key differential metabolites identified in fresh tea leaves in spring and summer

代谢物	*m/z*	VIP值	*P*	RT/min	差异倍数（春vs.夏）	二级质谱碎片
赖氨酸[a]	147.113 3	1.7	<0.001	0.6	0.34	84、130
亮氨酸[a]	132.102 4	1.6	<0.001	1.3	0.34	73、86、90、113、131
苯丙氨酸[a]	166.086 7	1.5	<0.001	2.3	0.39	97、137、147
谷氨酸[a]	148.060 9	1.5	<0.001	0.6	1.26	102、128
酪氨酸[a]	182.081 6	1.4	<0.001	1.1	0.41	72、93、119、163
脯氨酸[a]	116.071 1	1.3	<0.001	0.7	0.67	70、88、98
蛋氨酸[a]	150.058 8	1.3	<0.001	0.9	1.98	56、61、104、133
谷氨酰胺[a]	147.076 3	1.2	<0.001	0.7	2.64	109、127
茶氨酸[a]	175.108 2	1.2	<0.05	0.8	1.69	128、155
天冬氨酸[a]	134.045 2	1.2	<0.05	0.6	1.35	88、115
苏氨酸[a]	120.066 0	1.1	<0.05	0.6	1.21	56、74
没食子酰基葡萄糖[a]	331.067 0	1.6	<0.001	1.3	2.70	125、169、211、271
绿原酸[a]	353.086 8	1.4	<0.001	4.6	1.78	85、93、127、173
双没食子酰基葡萄糖[b]	483.078 0	1.2	<0.05	4.4	3.31	125、169、211、271、313
4-羟基苯甲酸[a]	137.023 9	1.2	<0.05	4.3	0.82	125
三没食子酰基葡萄糖[b]	635.088 3	1.1	<0.05	6.3	2.87	125、169、313、465、483
莽草酸[a]	173.045 5	1.3	<0.001	0.7	0.68	71、93、111、137
异荭草苷[a]	447.093 3	1.3	<0.05	6.6	0.18	327、357、401、429
荭草苷[a]	447.093 3	1.3	<0.05	6.8	0.17	327、357、379、401
牡荆素[a]	431.098 3	1.1	<0.05	7.6	0.23	283、311、341
山柰酚-3-*O*-*β*-芸香苷[a]	593.150 7	1.4	<0.001	8.7	1.86	285、327
三叶豆苷[a]	447.092 3	1.3	<0.05	8.7	1.50	255、284、285、327、357
杨梅素-3-*O*-半乳糖苷[a]	479.082 5	1.5	<0.001	6.7	0.60	316、317、271
杨梅素[a]	317.029 7	1.5	<0.001	10.0	0.51	255、284、285、327、357
杨梅素-3-*O*-葡萄糖苷[b]	479.082 6	1.1	<0.001	6.8	0.56	316、317、271
槲皮素-3-*O*-糖基化-芸香糖苷[b]	771.198 9	1.3	<0.001	7.2	0.63	301、343、609
槲皮素-3-*p*-香豆酰芸香糖苷[b]	755.187 3	1.2	<0.05	11.2	0.18	609、591、301、271
槲皮素[a]	301.034 8	1.1	<0.05	10.3	0.45	107、121、151、179
槲皮素-*p*-香豆酰葡萄糖苷[b]	609.127 9	1.1	<0.05	11.2	0.07	463、300、301
槲皮素-3-阿拉伯糖苷[b]	433.079 9	1.0	<0.001	8.7	0.60	300、271、301、255
表阿夫儿茶精[a]	425.087 8	1.5	<0.001	9.4	1.74	187、189、229、225
(−)-表阿福豆素-3-*O*-没食子酸酯[a]	273.077 3	1.4	<0.001	6.9	1.80	169、289、331、271、193、397
没食子儿茶素[a]	305.066 5	1.1	<0.05	3.4	0.76	125、137、165、179、219、221
表没食子儿茶素没食子酸酯[a]	305.066 5	1.0	<0.05	4.3	0.74	169、193、287、305、331
葡萄糖[a]	179.056 2	1.5	<0.001	0.6	0.84	59、71、89、101、113
葡萄糖酸[b]	195.051 0	1.5	<0.001	0.6	0.55	73、93、111、137
苹果酸[a]	133.013 7	1.3	<0.05	0.1	1.59	71、89、115
柠檬酸[a]	191.019 7	1.1	<0.001	1.0	0.73	85、111、115
5′-尿苷酸[b]	323.028 6	1.7	<0.001	0.7	1.70	173、211、279、305、79、193
甘油磷酸胆碱[a]	258.110 6	1.4	<0.001	0.7	1.48	104、86

注：a.通过标准品确定；b.根据精确质量和MS/MS确定。

为了直观地展示长沙春、夏季茶树鲜叶中代谢物的差异，通过热图对筛选出的40 个关键差异化合物的含量进行可视化。红色代表化合物含量高于平均水平，蓝色代表低于平均水平。如图4所示，40 个差异化合物明显地分为两个聚类。在聚类I中，甜味氨基酸（蛋氨酸和苏氨酸）、鲜味氨基酸（茶氨酸和谷氨酰胺）、酚酸（没食子酰基葡萄糖、双没食子酰基葡萄糖、三没食子酰基葡萄糖）和山柰酚-*O*-糖苷类物质（山柰酚-3-*O*-*β*-芸香苷和三叶豆苷）等在春季茶鲜叶中的含量较高。在聚类II中，苦味氨基酸（苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸和酪氨酸）、糖类物质（葡萄糖和葡萄糖酸）、黄酮-*C*-糖苷（牡荆素、荭草苷、异荭草苷）、杨梅素-*O*-糖苷（杨梅素、杨梅素-3-*O*-葡萄糖苷、杨梅素-3-*O*-半乳糖苷），以及槲皮素-*O*-糖苷（槲皮素、槲皮素-3-*P*-香豆酰芸香糖苷、槲皮素-3-阿拉伯糖苷）等在夏季茶树鲜叶中的含量更高。

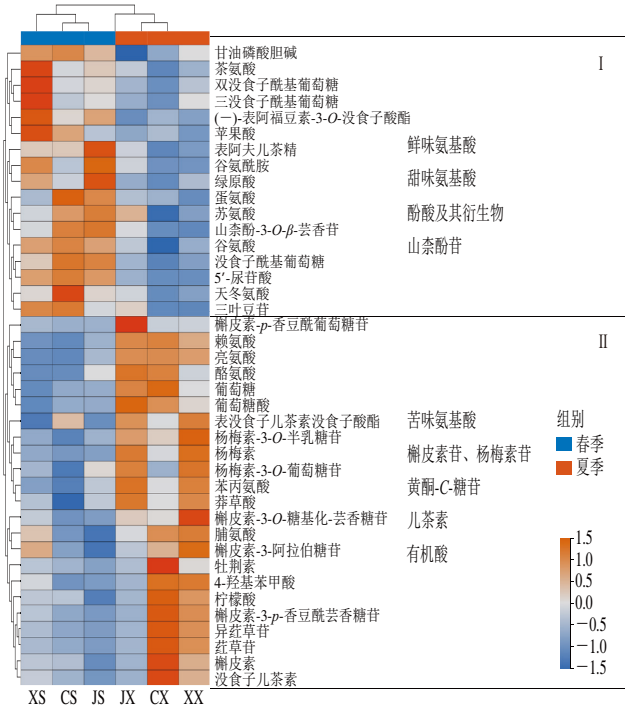


图 4　春、夏季茶树鲜叶中差异代谢物含量变化热图

Fig. 4　Heatmap of differential metabolite contents in fresh tea leaves in spring and summer

对春、夏季茶树鲜叶的关键差异代谢物进行代谢通路富集分析（图5）。结果表明，湖南长沙地区春、夏季茶树鲜叶中的重要差异化合物主要涉及黄酮（醇）苷代谢途径，丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢途径，类黄酮代谢途径，苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢途径。为了更加清晰地展示春、夏季茶树鲜叶关键物质分布的差异，并探究其含量差异形成的原因，绘制了关键差异化合物的代谢通路，结果如图6A所示。

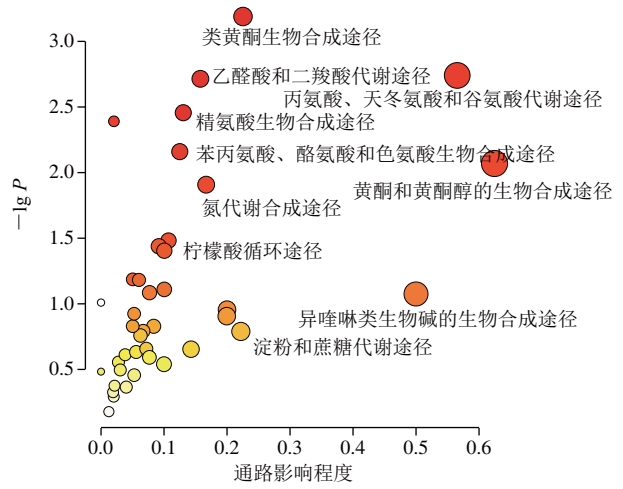
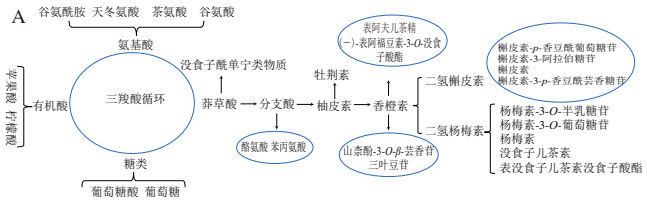
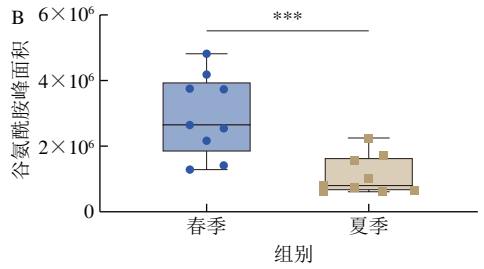
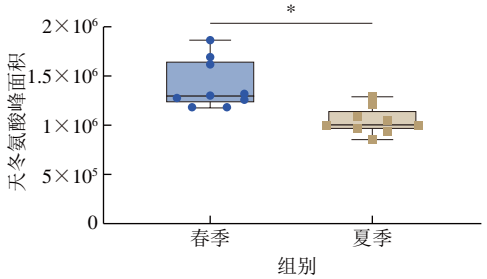


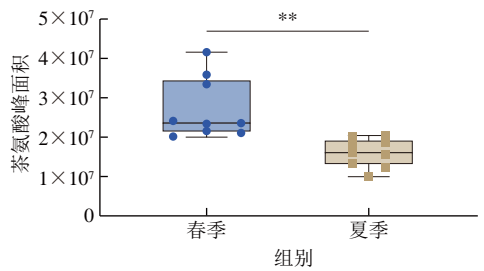
图 5 春、夏季茶树鲜叶中差异化合物代谢通路富集分析

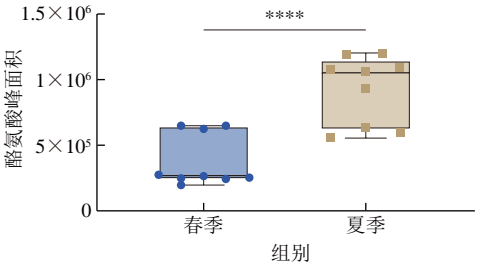
Fig. 5 Enrichment pathway analysis of differential metabolites in fresh tea leaves in spring and summer

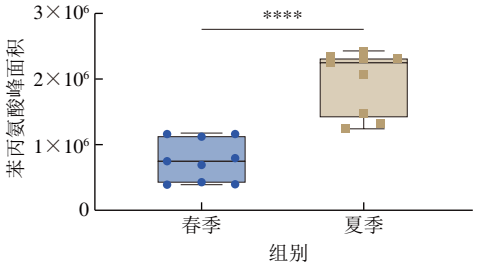


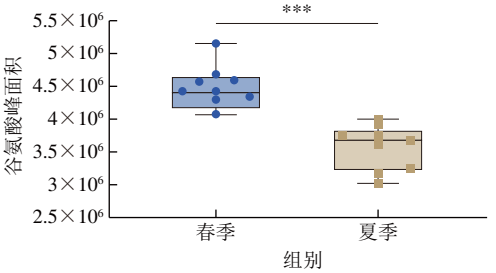


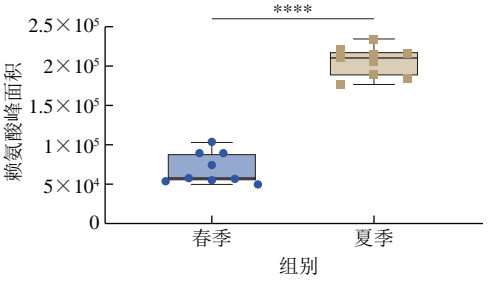


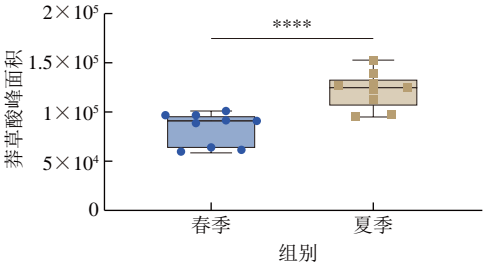


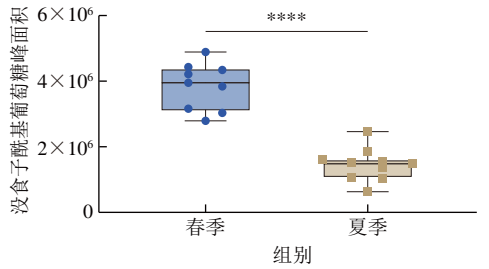


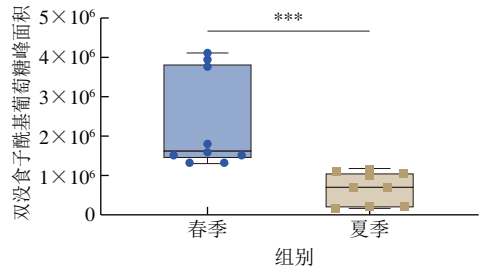


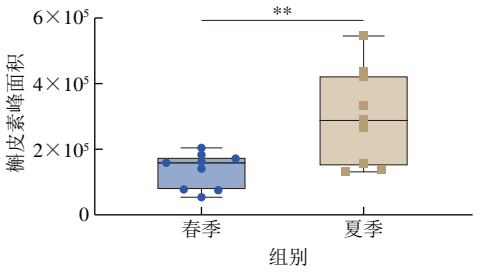


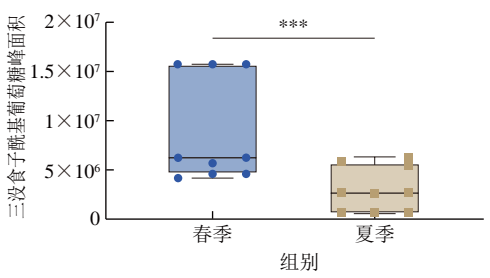


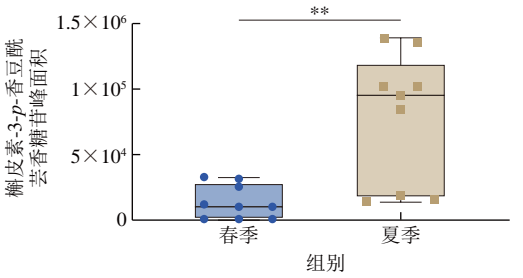


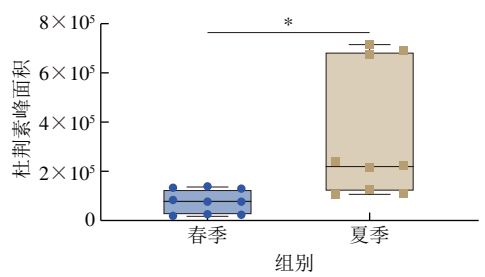


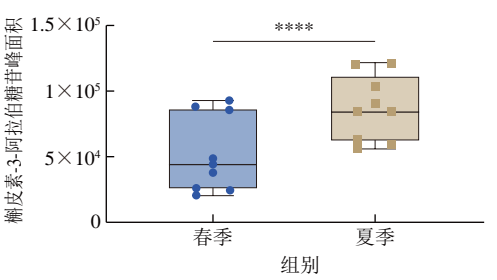

双没食子酰基葡萄糖峰面积
5×10^6
4×10^6
3×10^6
2×10^6
1×10^6
0
***
春季
夏季
组别

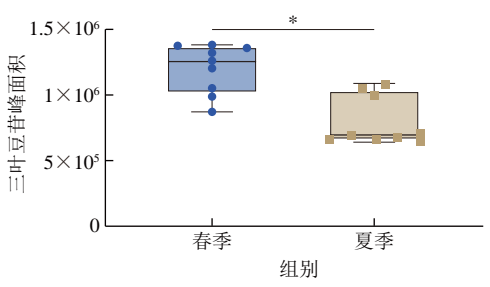

槲皮素峰面积
6×10^5
4×10^5
2×10^5
0
**
春季
夏季
组别

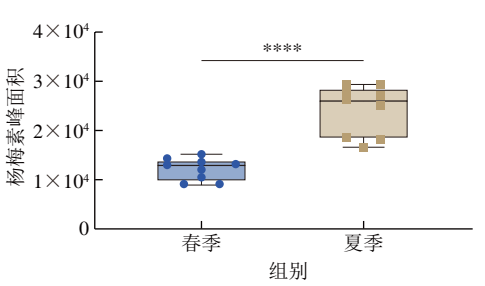

三没食子酰基葡萄糖峰面积
2×10^7
1.5×10^7
1×10^7
5×10^6
0
***
春季
夏季
组别

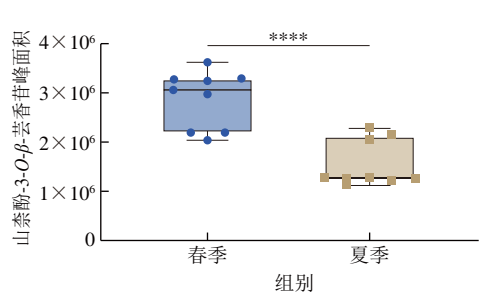

槲皮素-3-p-香豆酰芸香糖苷峰面积
1.5×10^6
1×10^5
5×10^4
0
**
春季
夏季
组别

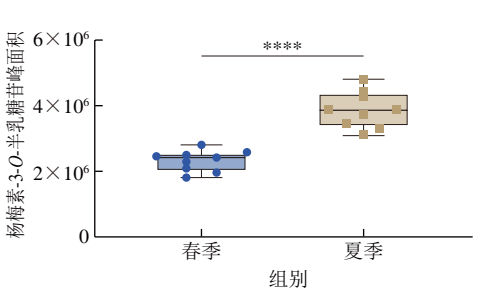

杜荆素峰面积
8×10^5
6×10^5
4×10^5
2×10^5
0
*
春季
夏季
组别

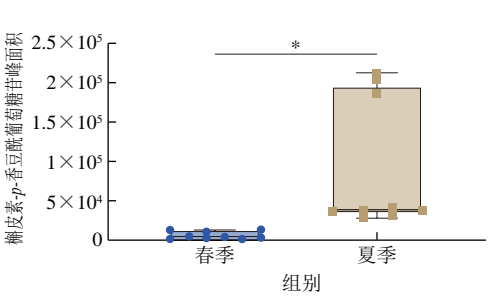

槲皮素-3-阿拉伯糖苷峰面积
1.5×10^5
1×10^5
5×10^4
0
****
春季
夏季
组别

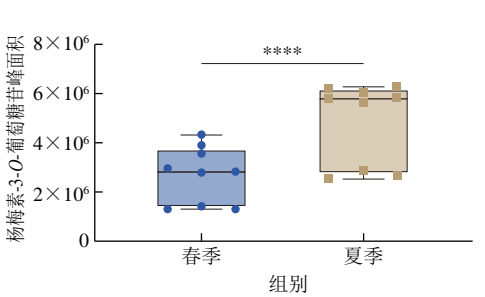

三叶豆苷峰面积
1.5×10^6
1×10^6
5×10^5
0
*
春季
夏季
组别

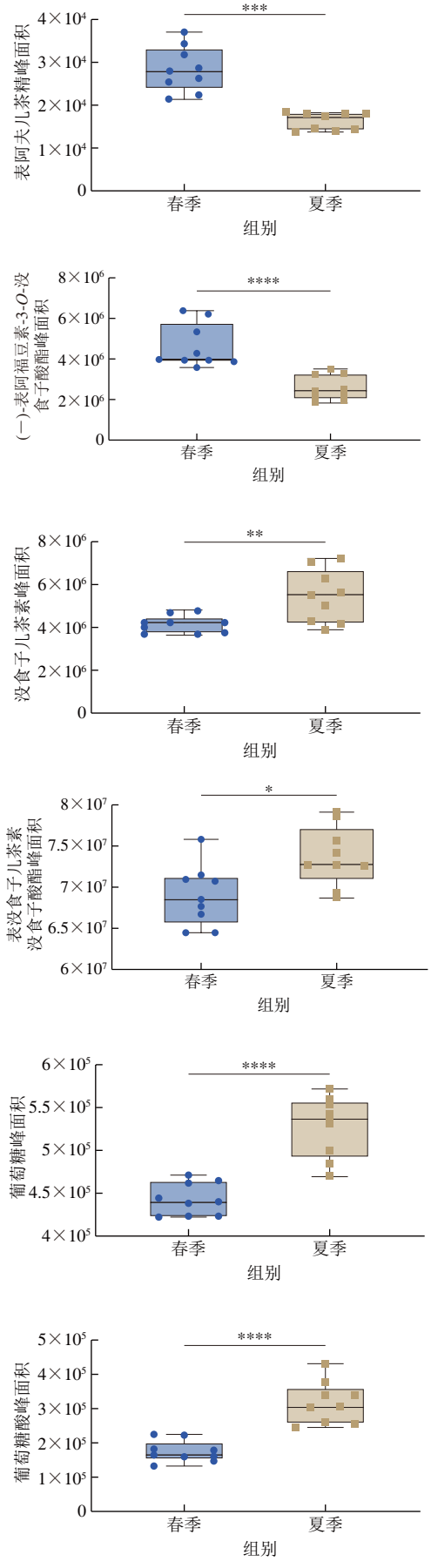

杨梅素峰面积
4×10^4
3×10^4
2×10^4
1×10^4
0
****
春季
夏季
组别


山柰酚-3-O-β-芸香苷峰面积
4×10^6
3×10^6
2×10^6
1×10^6
0
****
春季
夏季
组别


杨梅素-3-O-半乳糖苷峰面积
6×10^6
4×10^6
2×10^6
0
****
春季
夏季
组别


槲皮素-p-香豆酰葡萄糖苷峰面积
2.5×10^5
2×10^5
1.5×10^5
1×10^5
5×10^4
0
*
春季
夏季
组别


杨梅素-3-O-葡萄糖苷峰面积
8×10^6
6×10^6
4×10^6
2×10^6
0
****
春季
夏季
组别



A.代谢通路；B.代表性差异化合物含量。

图6 春、夏季茶树鲜叶关键差异物质代谢通路

Fig. 6 Metabolic pathways of key differential substances in fresh tea leaves in spring and summer

2.3.1 氨基酸类物质

氨基酸是茶汤中的重要呈味物质。本研究发现，甜味氨基酸（苏氨酸、蛋氨酸）与鲜味氨基酸（茶氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸）的含量在春季茶鲜叶中显著上调（$P<0.05$），是夏季茶鲜叶的1.21 倍以上，尤其是谷氨酰胺，其含量是夏季茶鲜叶的2.64 倍（表2）。茶氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸是茶叶中鲜味物质的重要来源，苏氨酸和蛋氨酸对茶汤甜味有贡献[4,27]，主要参与丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢途径等（图5）。本研究中，春季茶树鲜叶制得的湖红工夫茶口感较夏茶更为甜醇，且带鲜味（表1），可能与其甜味和鲜味氨基酸含量较高有关（表2、图6B）。相反，本研究中苦味氨基酸（亮氨酸、赖氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸）在春季茶鲜叶中含量较低，是夏季茶鲜叶的34%～41%（表2、图6B），苦味氨基酸主要参与苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢途径。氨基酸在春季茶鲜叶中的总含量高于夏季茶鲜叶，可能由于春季气温较低、光照弱，能够增强氮代谢，从而有利于游离氨基酸的合成[21]。

2.3.2 酚酸类物质

酚酸是一类具有羟基和羧基的芳香族化合物，是莽草酸代谢途径的重要产物[3]。长沙地区春、夏两季茶

树鲜叶样品中的酚酸含量存在差异。其中，没食子酰基葡萄糖、双没食子酰基葡萄糖和三没食子酰基葡萄糖这3 种没食子酰单宁类物质在春季茶鲜叶中的含量显著高于夏季茶鲜叶（$P<0.001$、$P<0.000\ 1$），是夏季鲜叶的2.70～3.31 倍（表2、图6B）。而莽草酸和4-羟基苯甲酸在夏季鲜叶中含量更高（表2、图6B）。酚酸在茶汤中呈味属性以酸涩为主，是黄酮（醇）苷类物质及儿茶素合成的前体物质，且具有较强的抗氧化能力[24]。相关研究表明，没食子酰单宁类物质能够增强茶汤的整体风味。如Han Zisheng等[28]基于代谢组学结合感官审评发现黄山毛峰品质越高，没食子酰单宁类物质含量越高。Shan Xujian等[29]通过呈味物质添加实验，证实了没食子单宁类物质有助于增强茶汤的鲜味。有研究报道，带苦涩味的莽草酸和4-羟基苯甲酸在夏茶含量较高（$P<0.05$）[30]，这与本研究结果一致。感官审评结果显示，春季湖红工夫茶呈现出鲜味，而夏季湖红工夫茶滋味略苦涩（表1），可能与酚酸类物质的含量差异有关。

2.3.3　黄酮（醇）苷类物质

根据连接苷元的不同，黄酮（醇）苷类可分为黄酮-*C*-糖苷和黄酮醇-*O*-糖苷，后者又可以分为山柰酚-*O*-糖苷类、杨梅素-*O*-糖苷和槲皮素-*O*-糖苷类物质，主要参与黄酮及黄酮醇类物质合成途径[3,31]。本研究发现，黄酮（醇）苷类物质因苷元的不同，其含量在春夏季茶树鲜叶中呈现不同的分布趋势（图4）。大部分黄酮（醇）苷，例如黄酮-*C*-糖苷（牡荆素、荭草苷、异荭草苷）、杨梅素-*O*-糖苷（杨梅素、杨梅素-3-*O*-葡萄糖苷、杨梅素-3-*O*-半乳糖苷）以及槲皮素-*O*-糖苷（槲皮素、槲皮素-3-*p*-香豆酰芸香糖苷、槲皮素-3-阿拉伯糖苷）在春季茶鲜叶中的含量低，是夏季茶鲜叶的7%～63%。而山柰酚-*O*-糖苷与其他黄酮（醇）苷物质不同，在春季茶鲜叶中的含量更高，如山柰酚-3-*O*-*β*-芸香苷和三叶豆苷，分别是夏季茶鲜叶中的1.86 倍和1.50 倍（表2）。本研究与Dai Weidong等[22]研究结果一致，即山柰酚-*O*-糖苷在春季茶鲜叶中含量较高，而杨梅素-*O*-糖苷、槲皮素-*O*-糖苷和黄酮-*C*-糖苷在夏季茶鲜叶中明显较高。有研究报道，更低温度和光照强度能够使黄酮（醇）苷类物质的含量更少[32]。本研究中，可能由于夏季茶树受到较强的光照和高温胁迫，累积了更多的黄酮（醇）苷类物质，如黄酮-*C*-糖苷、杨梅素-*O*-糖苷、槲皮素-*O*-糖苷类[22]。黄酮（醇）苷类在水中阈值极低（0.001～19.8 μmol/L），能够给口腔带来天鹅绒般的苦涩味[1,33]，使夏茶呈现一定的苦涩滋味（表1）。

2.3.4　黄烷醇及糖类物质

黄烷醇类物质是类黄酮代谢途径、苯丙素代谢途径的下游产物[22]。本研究中EGCG和GC在春季茶鲜叶样品中的含量较低，分别是夏季茶鲜叶76%和74%（表2、图6B）。以往研究表明，较强的光照能够增加茶叶中黄烷醇类物质的累积[34]。本研究中黄烷醇类物质在夏季茶鲜叶中的含量高于春季茶鲜叶，可能与夏季较高的光照强度有关。此外，茶叶中的可溶性糖也在夏季呈现较高的增长趋势，如葡萄糖和葡萄糖酸（图6B）。可溶性糖使茶汤呈现甜醇滋味。儿茶素是茶汤中主要的重要呈味物质，但是过高的含量可能会导致茶汤呈现苦涩味，从而降低红茶的甜醇度[2]，本研究中夏季湖红工夫茶滋味甜醇带苦涩可能与较高的黄烷醇含量和糖类物质含量有关。

2.4　关键差异化合物与感官指标的相关性分析

为了进一步探究长沙春夏两季茶树鲜叶样品中关键差异代谢物与感官审评指标之间的相关性，以40 种关键差异化合物的峰面积为*X*轴，感官审评属性得分为*Y*轴，基于PLS模型进行相关性分析，结果如图7所示。在PLS模型中，位于同一象限中心轴同侧且距离较近的两个变量具有较强的相关性[4,22]。在春季茶鲜叶中含量较高的甜味氨基酸（苏氨酸和蛋氨酸）、鲜味的氨基酸（谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸、茶氨酸）以及可以提升茶汤鲜味的没食子酰基葡萄糖类物质，与茶汤滋味、综合得分等感官指标呈正相关；在夏季茶鲜叶中含量较高的杨梅素-*O*-糖苷、槲皮素-*O*-糖苷类物质，苦味氨基酸（亮氨酸、赖氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸）与茶汤滋味、综合得分等感官指标呈负相关。本研究结果进一步验证了湖南长沙地区春、夏两季茶树鲜叶对所制湖红工夫茶品质成分的影响。由于茶叶中非挥发性成分复杂多样并且其呈味属性及阈值各异，因此挥发性成分对茶汤品质的贡献截然不同。此外，不同成分间存在呈味互作效应，因此，需要进行更深入的研究明确不同季节关键差异物质的品质贡献。

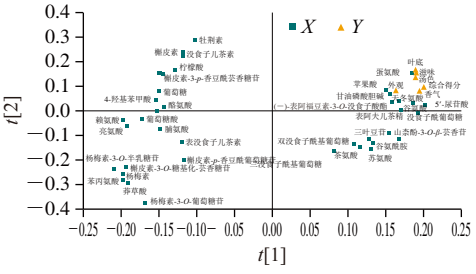


图 7　关键差异化合物和感官指标的PLS-DA

Fig. 7　PLS-DA plot of key differential metabolites and sensory quality indicators of fresh tea leaves in spring and summer

3　结　论

本研究通过传统感官审评方法，评价了湖南长沙地区春、夏两季茶树鲜叶制成的湖红工夫茶风味品质；并进一步运用代谢组学方法结合多元统计分析、代谢途径分析、相关性分析等，探究了春、夏两季茶树鲜叶内质成分的差异及其对成品红茶风味的影响，为解析采摘季

节对湖红工夫茶风味品质的影响提供了科学依据。结果表明，春季茶树鲜叶中的甜味氨基酸、鲜味氨基酸、酚酸及其衍生物以及山柰酚-*O*-糖苷类物质含量较高，且与其较优的感官指标（甜醇带鲜等）呈正相关；夏季茶鲜叶中具有更高含量的黄烷醇、苦味氨基酸、黄酮-*C*-糖苷、槲皮素-*O*-糖苷和杨梅素-*O*-糖苷，所制的湖红工夫茶甜醇带涩，综合得分较低。本研究结果可为湖红工夫茶的科学生产和茶叶资源的有效利用提供参考。在未来研究中，需对重要的茶叶成分进行绝对定量分析，结合其风味属性及阈值研究其品质贡献；同时，还需对更多品种茶树鲜叶的季节性代谢差异进行研究。

参考文献：

[1] 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.

[2] ZHANG S, SHAN X J, NIU L C, et al. The integration of metabolomics, electronic tongue, and chromatic difference reveals the correlations between the critical compounds and flavor characteristics of two grades of high-quality Dianhong congou black tea[J]. Metabolites, 2023, 13(7): 864. DOI:10.3390/metabo13070864.

[3] WU S M, YU Q Y, SHEN S, et al. Non-targeted metabolomics and electronic tongue analysis reveal the effect of rolling time on the sensory quality and nonvolatile metabolites of congou black tea[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 169: 113971. DOI:10.1016/j.lwt.2022.113971.

[4] ZHANG S, WU S M, YU Q Y, et al. The influence of rolling pressure on the changes in non-volatile compounds and sensory quality of congou black tea: the combination of metabolomics, E-tongue, and chromatic differences analyses[J]. Food Chemistry: X, 2023, 20: 100989. DOI:10.1016/j.fochx.2023.100989.

[5] SHARMA V, RAO L M. A thought on the biological activities of black tea[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2009, 49(5): 379-404. DOI:10.1080/10408390802068066.

[6] 丁其欢, 武珊珊, 熊昌云, 等. 工夫红茶研究进展[J]. 热带农业科学, 2021, 41(4): 110-116. DOI:10.12008/j.issn.1009-2196.2021.04.019.

[7] 龚自明, 刘盼盼, 郑鹏程, 等. 长江中下游产区红茶品质分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(23): 247-254. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2018.23.043.

[8] 银霞, 包小村, 黄建安, 等. 湖南地区红茶感官品质比较分析[J]. 茶叶通讯, 2020, 47(2): 297-302. DOI:10.3969/j.issn.1009-525X.2020.02.020.

[9] 周琳, 禹利君, 包小村. 湖南红、绿茶产业发展现状及对策分析[J]. 茶叶通讯, 2009, 36(2): 23-25. DOI:10.3969/j.issn.1009-525X.2009.02.003.

[10] 黄浩, 余鹏辉, 赵熙, 等. 湖南不同产地工夫红茶品质成分分析[J]. 茶叶通讯, 2019, 46(2): 208-214.

[11] 银霞, 张曙光, 黄静, 等. 湖南红茶特征滋味化学成分研究[J]. 茶叶科学, 2019, 39(2): 150-158. DOI:10.13305/j.cnki.jts.2019.02.004.

[12] 银霞, 黄建安, 黄静, 等. 湖南三种不同嫩度工夫红茶香气品质比较分析[J]. 茶叶通讯, 2021, 48(2): 280-286. DOI:10.3969/j.issn.1009-525X.2021.02.013.

[13] 卢丹敏, 欧阳建, 熊一帆, 等. 湖南红茶品质特征分析及其等级判别模型的构建[J]. 食品工业科技, 2021, 42(10): 255-260. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020080104.

[14] 粟本文, 黄怀生, 钟兴刚, 等. 湖南三种花香型特色工夫红茶主要香气成分分析[J]. 茶叶通讯, 2022, 49(2): 224-231.

[15] YIN X, HUANG J A, HUANG J, et al. Identification of volatile and odor-active compounds in Hunan black tea by SPME/GC-MS and multivariate analysis[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 164: 113656. DOI:10.1016/j.lwt.2022.113656.

[16] YIN X, XIAO Y B, WANG K F, et al. Effect of shaking manners on floral aroma quality and identification of key floral-aroma-active compounds in Hunan black tea[J]. Food Research International, 2023, 174: 113515. DOI:10.1016/j.foodres.2023.113515.

[17] WANG K F, XIAO Y B, XIE N C, et al. Effect of leaf grade on taste and aroma of Shaken Hunan black tea[J]. Foods, 2023, 13(1): 42. DOI:10.3390/foods13010042.

[18] JIANG Y W, HUA J J, WANG B, et al. Effects of variety, season, and region on theaflavins content of fermented Chinese congou black tea[J]. Journal of Food Quality, 2018, 2018: 5427302. DOI:10.1155/2018/5427302.

[19] 付静. 不同采摘季节工夫红茶品质的研究[J]. 食品科技, 2017, 42(11): 90-95. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2017.11.017.

[20] 李丹阳, 韩明红, 王妮妮, 等. 不同季节红茶的感官品质及内含成分分析[J]. 落叶果树, 2016, 48(6): 20-22. DOI:10.13855/j.cnki.lygs.2016.06.007.

[21] 毛娟, 王文海, 洛英, 等. 西藏墨脱县6 个茶树品种春夏两季化学品质差异分析[J]. 食品科学, 2024, 45(10): 10167-10174. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230922-204.

[22] DAI W D, QI D D, YANG T, et al. Nontargeted analysis using ultraperformance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry uncovers the effects of harvest season on the metabolites and taste quality of tea (*Camellia sinensis* L.)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(44): 9869-9878. DOI:10.1021/acs.jafc.5b03967.

[23] 李思源, 李培瑜, 刘弈彤, 等. 代谢组学在食品科学中的应用进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(5): 252-258. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.025379.

[24] LI S B, TIAN Y F, JIANG P, et al. Recent advances in the application of metabolomics for food safety control and food quality analyses[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 61(9): 1448-1469. DOI:10.1080/10408398.2020.1761287.

[25] ZENG L, JIN S, FU Y Q, et al. A targeted and untargeted metabolomics analysis of 'Oriental Beauty' oolong tea during processing[J]. Beverage Plant Research, 2022, 2(1): 1-10. DOI:10.48130/bpr-2022-0020.

[26] LI J, WANG J Q, YAO Y F, et al. Phytochemical comparison of different tea (*Camellia sinensis*) cultivars and its association with sensory quality of finished tea[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 117: 108595. DOI:10.1016/j.lwt.2019.108595.

[27] 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. DOI:10.1080/10408398.2018.1552245.

[28] HAN Z S, WEN M C, ZHANG H W, et al. LC-MS based metabolomics and sensory evaluation reveal the critical compounds of different grades of Huangshan Maofeng green tea[J]. Food Chemistry, 2022, 374: 131796. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131796.

[29] SHAN X J, JIANG Y W, ZHANG S, et al. Key umami taste contributors in Longjing green tea uncovered by integrated means of sensory quantitative descriptive analysis, metabolomics, quantification analysis and taste addition experiments[J]. Food Chemistry, 2024, 453: 139628. DOI:10.1016/j.foodchem.2024.139628.

[30] SHAN X J, DENG Y L, NIU L C, et al. The influence of fixation temperature on Longjing tea taste profile and the underlying non-volatile metabolites changes unraveled by combined analyses of metabolomics and E-tongue[J]. LWT-Food Science and Technology, 2024, 191: 115560. DOI:10.1016/j.lwt.2023.115560.

[31] SHAN X J, YU Q Y, CHEN L, et al. Analyzing the influence of withering degree on the dynamic changes in non-volatile metabolites and sensory quality of Longjing green tea by non-targeted metabolomics[J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1104926. DOI:10.3389/fnut.2023.1104926.

[32] 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.

[33] 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 and Food Chemistry, 2004, 52(11): 3498-3508. DOI:10.1021/jf049802u.

[34] ZHENG X Q, JIN J, CHEN H, et al. Effect of ultraviolet B irradiation on accumulation of catechins in tea (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze)[J]. African Journal of Biotechnology, 2008, 7(18): 3283-3287.