

# 基于非靶向代谢组学比较手工和 机制信阳毛尖的代谢物差异

王伟伟<sup>1</sup>, 陈 义<sup>2</sup>, 杨丽娟<sup>1,3</sup>, 江和源<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业科学院茶叶研究所, 杭州 310008; 2. 河南省豫南茶树资源综合开发重点实验室,  
信阳 464000; 3. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081)

**摘要:** **目的** 探明两种加工方式对信阳毛尖的化学成分影响。**方法** 以信阳群体种一芽一叶为原料, 分别按照手工和机制方式加工信阳毛尖, 采用超高效液相色谱-四极杆-静电轨道阱质谱法对非挥发性化合物进行分析。**结果** 本研究共鉴定出 93 个化合物, 包括生物碱类、氨基酸类、儿茶素类、儿茶素二聚物类、黄酮(醇)糖苷类、酚酸类、核苷类等。采用主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)等方法, 对手工和机制加工信阳毛尖过程样的研究表明: 手工和机制加工过程样可以通过化学成分的组成进行较好地地区分, 进一步分析两种加工方式发现了 40 种差异化合物, 其中黄酮(醇)糖苷类和氨基酸是差异最明显的两大类成分, 机制茶加工过程样中多数黄酮(醇)糖苷类和氨基酸含量高于手工制作, 手工茶的 *L*-丙氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、山奈酚 3-O-半乳糖苷和槲皮素含量高于机制茶。手工茶制作过程中, 杀青温度较低、时间相对较长, 从而产生了更多的表阿夫儿茶精-3-没食子酸酯、原花青素 B<sub>1</sub>、聚酯型儿茶素 A 和茶黄素双没食子酸酯等二聚物。此外, 手工茶的多数酚酸类化合物, 以及一磷酸腺苷和磷酸甘油胆碱等含量高于机制茶。**结论** 本研究采用代谢组学方法较为系统地分析了手工和机制信阳毛尖加工过程中的差异化合物, 为信阳毛尖手工茶和机制茶品质差异评价及加工技术提升提供了理论依据。

**关键词:** 信阳毛尖; 手工; 机制; 代谢组学; 差异化合物

## Comparison of metabolite differences between hand-made and machine-made Xinyang Maojian based on non-targeted metabolomics

WANG Wei-Wei<sup>1</sup>, CHEN Yi<sup>2</sup>, YANG Li-Juan<sup>1,3</sup>, JIANG He-Yuan<sup>1\*</sup>

(1. Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008, China; 2. Henan Key Laboratory of Tea Plant Comprehensive Utilization in South Henan, Xinyang 464000, China; 3. Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the impact of 2 kinds of processing methods on the chemical composition of Xinyang Maojian. **Methods** Xinyang Maojian was processed hand-made and machine-made methods using one bud and one leaf of Xinyang population planting, an ultra performance liquid chromatography-quadrupole

**基金项目:** 浙江省科技计划项目(2022C02033-3)、河南省豫南茶树资源综合开发重点实验室开放基金项目(HNKLTOF2019006)、中国农业科学院科技创新工程项目(CAAS-ASTIP-2022-TRICAAS)

**Fund:** Supported by the Key Research and Development Program of Zhejiang Province (2022C02033-3), the Henan Key Laboratory of Tea Plant Comprehensive Utilization in South Henan (HNKLTOF2019006), and the Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS-ASTIP-2022-TRICAAS)

\*通信作者: 江和源, 博士, 研究员, 主要研究方向为茶叶化学与加工。E-mail: jianghy@tricaas.com

\*Corresponding author: JIANG He-Yuan, Ph.D, Professor, Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, No.9, South Meiling Road, Xihu District, Hangzhou 310008, China. E-mail: jianghy@tricaas.com

electrostatic orbitrap mass spectrometry was applied to analyze the non-volatile chemical components. **Results** A total of 93 compounds were structurally identified in this study, including alkaloids, amino acids, catechins, dimeric catechins, flavonoid (alcohol) glycosides, phenolic acids, nucleosides, *etc.*. The study between the hand-made and machine-made Xinyang Maojian processing was analysed by principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA), hand-made and machine-made processing samples could be well distinguished by the chemical components, it got 40 differential compounds after further analysis of two sets of process samples, among them, flavonoid (alcohol) glycosides and amino acids were the most differential components, the components of most flavonoids (alcohols) glycosides and amino acids in the processed samples of machine-made samples were higher than that in hand-made samples, *L*-alanine,  $\gamma$ -aminobutyric acid, kaempferol 3-O-galactoside, and quercetin contents in hand-made samples were higher than that in machine-made samples. Hand-made tea had more dimers catechins such as epiafzelechin 3-gallate, procyanidin B<sub>1</sub>, theasininsin A, and theaflavin digallate due to its low fixation temperature and long time. In addition, most phenolic acid compounds, as well as adenosine monophosphate and glycerophorine, in hand-made tea were higher than those in machine-made tea. **Conclusion** This study systematically analyze the differential compounds in the manual and mechanical processing of Xinyang Maojian used metabolomics methods, as well as provide theoretical basis for evaluating the quality differences and improving the processing technology between hand-made and machine-made Xinyang Maojian tea.

**KEY WORDS:** Xinyang Maojian; hand-made; machine-made; metabolomics; differential compound

## 0 引言

信阳毛尖是我国传统十大名茶之一,素有“细、圆、紧、直、多白毫、香高、味浓、汤绿”的品质特点,传统信阳毛尖为手工炒制,“看茶做茶”的炒制技术世代相传<sup>[1]</sup>。手工制茶的加工工序主要为生锅、熟锅和干燥,生锅和熟锅采用炒茶专用铁锅,干燥采用炭火干燥,信阳毛尖的手工制茶技艺是河南省的非物质文化遗产,具有独特的文化价值<sup>[2]</sup>。但手工制茶也存在制茶人员技术差异大、生产效率低和成本高的不足,而后由传统制茶技艺的经验,逐步开发了半机械化和机械化加工技术,信阳毛尖的机械化加工的工序主要为杀青、揉捻、理条、炒条和烘干<sup>[3]</sup>。由于机械化和手工制茶存在设备和工艺的差异,品质也略有不同,传统手工信阳毛尖色泽更绿润、滋味更浓,现代机械制茶条索更紧结,茶汤更明亮,并且有手工制茶优于机制茶的说法。

茶叶的品质主要由其内含化合物决定,不同等级、采摘时间和鲜叶品种的信阳毛尖所含化合物存在差异,等级降低氨基酸和咖啡碱含量下降,茶多酚、叶绿素和水浸出物升高,春季游离氨基酸、表儿茶素没食子酸酯、没食子酸等成分含量较高,夏季黄酮类物质、表没食子儿茶素没食子酸酯等含量较高<sup>[4-9]</sup>。传统手工信阳毛尖加工生锅过程中茶多酚、氨基酸和水浸出物含量降低,熟锅过程增加<sup>[10]</sup>,刘建军等<sup>[11]</sup>比较了 5 个不同产区信阳毛尖传统手工茶和现代机械工艺茶的成分差异,未发现咖啡碱、儿茶素、可溶性糖、氨基酸、叶绿素等成分存在明确的规律。可见,由于茶树品种、生长环境和原料等级等的不同,较难判定信阳毛尖手工和机制茶的化学成分差异性。代谢组学是近几

年热门的研究方法,可以鉴定到常规方法难以检测到的物质,采用代谢组学方法分析茶叶加工过程中的差异化合物具有强大的优势<sup>[12-15]</sup>。近几年,代谢组学应用到茶学领域,对于茶叶品质分析、茶类比较及茶叶加工过程中的代谢物变化规律等方面均取得了较快的进展<sup>[16-19]</sup>。本研究以相同原料,分别按照手工和机制两种方法加工成信阳毛尖,采用代谢组学方法进行分析手工茶和机制茶内含成分的差异,对信阳毛尖茶鉴定及后续加工技术开发有较大帮助。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

2022 年 4 月,于信阳市茶叶试验站开展实验,生产过程取样分析。采摘信阳群体种一芽一叶,分别按照手工和机制两种方式加工成信阳毛尖绿茶,加工工序及工艺参数如图 1 所示。分别在手工制茶工序中生锅、熟锅和干燥以及机械制茶工序中杀青、揉捻、理条、炒条和干燥过程中取样,采用 120℃烘干固样。

咖啡碱、没食子酸、奎宁酸、茶没食子素、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素(epicatechin, EC)、儿茶素(catechin, C)、*L*-丙氨酸(*L*-alanine)、*L*-精氨酸(*L*-arginine)、*L*-天冬氨酸(*L*-aspartic acid)、*L*-谷氨酸(*L*-glutamic acid)、*L*-组氨酸(*L*-histidine)、*L*-亮氨酸(*L*-leucine)、*L*-赖氨酸(*L*-lysine)、*L*-苯丙氨酸(*L*-phenylalanine)、*L*-脯氨酸(*L*-proline)、*L*-丝氨酸(*L*-serine)、*L*-苏氨酸(*L*-threonine)、*L*-酪氨酸(*L*-tyrosine)、*L*-缬氨酸(*L*-valine)、*L*-天冬酰胺(*L*-asparagine)、

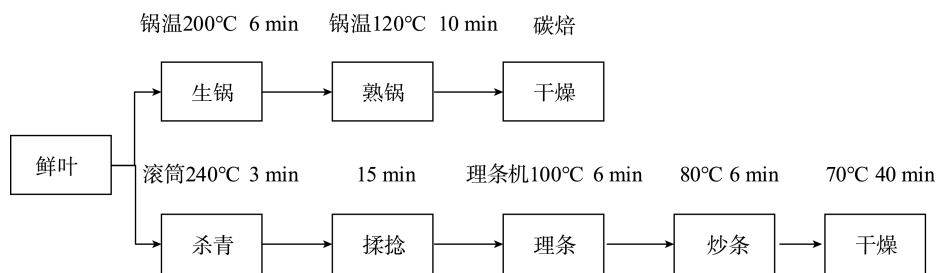


图 1 手工和机制信阳毛尖茶的加工工序及工艺参数

Fig.1 Processing process and process parameters of hand-made and machine-made Xinyang Maojian tea

*L*-谷氨酰胺(*L*-glutamine)、*L*-茶氨酸(*L*-theanine)、 $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid)、*L*-色氨酸(*L*-tryptophan)、山奈素(kaempferol)、槲皮素(querctin)、牡荆素(vitexin)、杨梅素(myricetin)(纯度 $\geq 98\%$ , 美国 Sigma 公司); 茶黄素(theaflavin, TF)、茶黄素单没食子酸酯(theaflavin monogallate, TFMG)、茶黄素双没食子酸酯(theaflavin-3-3'-gallate, TFDG)(纯度 $\geq 98\%$ , 日本和光纯药工业株式会社); 聚酯型儿茶素 A(theasinensin A)(纯度 $\geq 98\%$ , 日本长崎大学); 乙腈、甲醇[色谱纯, 默克化工技术(上海)有限公司产品]; 甲酸(色谱纯, 上海麦克林生化科技有限公司); 纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

## 1.2 仪器与设备

UPLC-Q Exactive 型超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); Waters Atlantis T3 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu$ m)(美国 Waters 公司); SQP 电子天平[精度 0.1 mg, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; Tube Mill 100 粉碎研磨机(德国 IKA 公司); 5810R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 茶样前处理

准确称取磨碎的茶粉 50 mg, 加入 75%甲醇 25 mL, 70°C 水浴提取 30 min, 每 10 min 摇一次, 取出后冷却至室温, 15000 r/min 离心 10 min, 上清液稀释 20 倍, 涡旋后进行超高效液相色谱-四极杆-静电轨道阱质谱法上样分析。

### 1.3.2 常规成分检测方法

氨基酸: GB/T 8314—2013《茶 游离氨基酸总量的测定》; 水浸出物: GB/T 8305—2013《茶 水浸出物测定》; 茶多酚: GB/T 8313—2018《茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法》。

### 1.3.3 色谱条件

Waters Atlantis T3 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu$ m), 柱温 40°C, 流速 0.3 mL/min, 进样量 3  $\mu$ L。流动相: A 相为体积分数 0.1%甲酸-水溶液, B 相为乙腈。洗脱程序: 0~1.0 min, 5% B; 2.0 min, 10% B; 6.0 min, 35% B; 8.5~9.5 min, 100% B; 10.0~12.0 min, 5% B。

### 1.3.4 质谱条件

采用电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)离子源, 正负离子扫描, 毛细管电压 3.1 kV, 毛细管温度 320°C, 辅助气温度 300°C, 辅助气流速 10 L/min, 质量扫描范围 66.7~1000 *m/z*。

## 1.4 数据处理

每组实验均进行 3 次重复, 采用 Compound Discoverer 3.2 软件进行峰匹配与峰面积提取。化合物定性采用标准品定性, 结合 HMDB、mzcloud、METLIN 数据库进行碎片比对。数据采用主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)采用 Simca 14.1 软件分析, 差异显著性分析采用 SPSS 19 软件, 绘图采用 Excel 2019 完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 常规成分的变化

信阳毛尖加工过程中常规成分的变化及手工和机制的差异, 如表 1 所示, 信阳毛尖加工过程中水浸出物呈现逐渐降低的趋势, 手工茶高于机制茶; 氨基酸含量则在杀青过程中降低, 后续加工过程出现回升, 机制茶氨基酸含量高于手工茶; 咖啡碱含量表现为杀青过程中降低, 后续工序变化不明显, 机制茶高于手工茶。茶多酚含量无明显变化规律, 且手工和机制茶干燥样含量相近。总的来看, 原料相同条件下, 信阳毛尖机制茶氨基酸和咖啡碱含量更高, 手工茶水浸出物含量更高, 经过加工工序, 氨基酸、水浸出物和咖啡碱含量均降低。造成氨基酸、水浸出物、茶多酚和咖啡碱含量呈现该规律, 可能是因为手工杀青和机械杀青温度差异导致。

### 2.2 主要代谢物的鉴定

通过对不同样品正负离子模式下的数据处理、标准品比较、质谱分析等共鉴定出 93 个化合物, 包括 3 个生物碱类、19 个氨基酸类、12 个儿茶素类、8 个儿茶素二聚物、28 个黄酮(醇)糖苷类、14 个酚酸类、4 个核苷类、5 个其他类化合物, 化合物编号、质荷比及保留时间等信息见表 2。

表 1 手工和机制对信阳毛尖常规成分的影响  
Table 1 Effects of hand-made and machine-made on conventional components of Xinyang Maojian

样品名		氨基酸/%	水浸出物/%	茶多酚/%	咖啡碱/%
原料	鲜叶	3.63±0.06 <sup>a</sup>	43.38±0.10 <sup>a</sup>	19.58±0.15 <sup>d</sup>	3.03±0.08 <sup>a</sup>
	生锅	2.80±0.07 <sup>c</sup>	42.85±0.27 <sup>ab</sup>	20.90±0.03 <sup>a</sup>	2.63±0.01 <sup>c</sup>
手工	熟锅	3.08±0.03 <sup>d</sup>	42.57±0.46 <sup>b</sup>	19.70±0.09 <sup>cd</sup>	2.56±0.02 <sup>c</sup>
	干燥	3.11±0.00 <sup>d</sup>	42.44±0.40 <sup>b</sup>	20.23±0.03 <sup>b</sup>	2.58±0.02 <sup>c</sup>
	杀青	3.33±0.06 <sup>c</sup>	40.41±0.55 <sup>d</sup>	19.37±0.02 <sup>e</sup>	2.75±0.01 <sup>b</sup>
机制	揉捻	3.49±0.10 <sup>b</sup>	41.22±0.10 <sup>c</sup>	19.77±0.08 <sup>cd</sup>	2.76±0.00 <sup>b</sup>
	理条	3.46±0.06 <sup>bc</sup>	41.13±0.27 <sup>cd</sup>	19.76±0.05 <sup>cd</sup>	2.75±0.01 <sup>b</sup>
	炒条	3.43±0.01 <sup>bc</sup>	41.11±0.14 <sup>cd</sup>	19.73±0.07 <sup>cd</sup>	2.77±0.02 <sup>b</sup>
	干燥	3.37±0.02 <sup>bc</sup>	41.09±0.03 <sup>cd</sup>	20.28±0.02 <sup>b</sup>	2.78±0.04 <sup>b</sup>

注: 同列不同小写字母代表差异显著,  $P < 0.05$ 。

表 2 茶叶中代谢物的初步鉴定  
Table 2 Tentative identification of metabolites in tea

编号	质荷比 ( <i>m/z</i> )	保留时间 /min	代谢物鉴定	离子 模式
C1	181.0720	3.67	茶叶碱	+
C2	195.0877	5.39	咖啡碱*	+
C3	104.1073	0.82	胆碱	+
C4	90.0554	0.84	<i>L</i> -丙氨酸*	+
C5	175.1190	0.78	<i>L</i> -精氨酸*	+
C6	134.0449	0.84	<i>L</i> -天冬氨酸*	+
C7	148.0605	0.86	<i>L</i> -谷氨酸*	+
C8	156.0768	0.78	<i>L</i> -组氨酸*	+
C9	132.1019	1.68	<i>L</i> -亮氨酸*	+
C10	147.1129	0.76	<i>L</i> -赖氨酸*	+
C11	166.0864	2.61	<i>L</i> -苯丙氨酸*	+
C12	116.0708	0.89	<i>L</i> -脯氨酸*	+
C13	106.0502	0.82	<i>L</i> -丝氨酸*	+
C14	120.0657	0.84	<i>L</i> -苏氨酸*	+
C15	182.0812	1.47	<i>L</i> -酪氨酸*	+
C16	118.0865	0.92	<i>L</i> -缬氨酸*	+
C17	133.0609	0.82	<i>L</i> -天冬氨酸*	+
C18	147.0765	0.84	<i>L</i> -谷氨酰胺*	+
C19	175.1079	0.92	<i>L</i> -茶氨酸*	+
C20	104.0709	0.82	$\gamma$ -氨基丁酸*	+
C21	205.0971	4.47	<i>L</i> -色氨酸*	+
C22	277.1394	0.82	<i>L</i> -酵母氨酸	+
C23	457.0776	5.81	表没食子儿茶素没食 子酸酯*	-
C24	305.0665	4.89	表没食子儿茶素*	-
C25	441.0827	6.65	表儿茶素没食子酸酯*	-
C26	289.0717	5.78	表儿茶素*	-
C27	289.0717	5.20	儿茶素*	-
C28	451.1245	4.68	表儿茶素 3-葡萄糖苷	-
C29	471.0932	6.41	表没食子儿茶素 3-甲 基没食子酸酯	-
C30	273.0768	6.35	表阿夫儿茶精	-
C31	455.0985	7.20	表儿茶素 3-甲基没食 子酸酯	-
C32	455.0987	7.44	表儿茶素 4-甲基没食 子酸酯	-

表 2(续)

编号	质荷比 ( <i>m/z</i> )	保留时间 /min	代谢物鉴定	离子 模式
C33	425.0880	7.25	表阿夫儿茶精-3-没食 子酸酯	-
C34	451.1034	7.36	表阿夫儿茶精-3-香豆 素酸酯	-
C35	563.1201	7.93	茶黄素*	-
C36	715.1316	8.08	茶黄素单没食子酸酯*	-
C37	867.1420	8.14	茶黄素双没食子酸酯*	-
C38	577.1354	5.40	原花青素 B <sub>1</sub>	-
C39	865.1993	5.84	原花青素 C	-
C40	761.1359	4.91	聚酯型儿茶素 B	-
C41	913.1475	5.53	聚酯型儿茶素 A*	-
C42	897.1531	6.03	聚酯型儿茶素 F	-
C43	730.1500	6.03	3-甲酰基原花青素 B <sub>1</sub>	-
C44	593.1517	6.84	芹菜素-6,8-C-葡萄糖苷	-
C45	563.1409	6.01	芹菜素-6-C--阿拉伯糖 苷-8-C--葡萄糖苷	-
C46	787.1940	5.89	槲皮素三葡萄糖苷	-
C47	447.0934	6.95	山奈酚 3-O-半乳糖苷	-
C48	447.0934	7.07	山奈酚 3-O-葡萄糖苷	-
C49	479.0831	6.17	杨梅素 3-葡萄糖苷	-
C50	625.1408	6.05	槲皮素双葡萄糖苷	-
C51	577.1556	6.43	山奈酚 3,7-二鼠李糖苷	-
C52	477.0675	6.49	槲皮素 3-O-葡萄糖醛酸	-
C53	771.1994	6.26	槲皮素 3-O-葡萄糖基 芸香糖苷	-
C54	463.0876	6.61	槲皮素 3-O-半乳糖苷*	-
C55	599.1041	6.69	山奈酚 7-(6"-没食子酰 基半乳糖苷)	-
C56	599.1051	6.94	山奈酚 3-(6"-没食子酰 基半乳糖苷)	-
C57	609.1461	6.47	芦丁	-
C58	755.2046	6.46	山奈酚 3-O-半乳糖苷	-
C59	755.2044	6.59	山奈酚 3-O-葡萄糖基 芸香糖苷	-
C60	593.1517	6.84	山奈酚 3-O-芸香糖苷	-
C61	417.0830	7.27	山奈酚 3-O-阿拉伯糖苷	-
C62	285.0406	8.69	山奈素*	-

表 2(续)

编号	质荷比 ( <i>m/z</i> )	保留时间 /min	代谢物鉴定	离子 模式
C63	301.0353	7.67	槲皮素*	-
C64	431.0983	6.55	牡荆素*	-
C65	269.0454	5.79	芹菜素	-
C66	319.0443	6.16	杨梅素*	+
C67	289.0704	5.79	二氢山奈酚	-
C68	401.1447	5.64	苯甲基樱草糖苷	-
C69	415.1612	6.25	苯乙醇樱草糖苷	-
C70	447.2235	8.33	芳樟醇樱草糖苷	-
C71	169.0142	5.81	没食子酸*	-
C72	191.0552	0.94	奎宁酸*	-
C73	181.0493	4.92	咖啡酸	+
C74	331.0670	0.92	没食子酸酰葡萄糖苷	-
C75	331.0670	1.75	没食子酸酰葡萄糖苷 2	-
C76	343.0668	2.16	茶没食子素*	-
C77	353.0877	5.19	4-咖啡奎宁酸	-
C78	353.0878	5.31	绿原酸	-
C79	337.0929	5.05	4-对香豆酰基奎宁酸酸	-
C80	337.0929	5.86	3-对香豆酰基奎宁酸	-
C81	335.0772	5.76	咖啡酰莽草酸	-
C82	515.1195	7.05	3,5-二咖啡酰奎宁酸	+
C83	139.0390	4.92	水杨酸	+
C84	652.1134	5.18	木麻黄素	+
C85	348.0698	0.90	一磷酸腺苷	+
C86	268.1038	1.69	腺苷	+
C87	298.0967	4.54	5'-甲基磷酸腺苷	+
C88	127.0502	9.70	胸腺嘧啶	+
C89	191.0190	0.94	柠檬酸盐	-
C90	139.0390	5.81	芝麻酚	+
C91	258.1100	0.84	磷酸甘油胆碱	+
C92	337.1605	0.92	茶氨酸糖苷	+
C93	308.0909	1.32	还原性谷胱甘肽	+

注: \*代表该物质采用标准品验证。

### 2.3 手工和机制信阳毛尖代谢物的差异化合物分析

将 93 个鉴定的化合物进行 PCA, 了解不同信阳毛茶加工过程样的差异。如图 2A 所示, 主成分 1 和主成分 2 分别解释了总体方差的 39.7%和 23.0%, 手工和机制信阳毛尖茶在图上有明显的分离, 表明手工和机制信阳毛尖茶的内含代谢物存在差异; 采用 OPLS-DA 进一步分析, 由图 2B 所示, 手工和机制信阳毛尖茶得到较好分离, 机制茶的过程样主要分布在一、四象限, 手工茶的过程样分布在二、三象限; OPLS-DA 模型验证结果如图 2C 所示,  $R^2$  和  $Q^2$  的截距分别为 0.438 和 -0.568, 表明模型可靠; 进一步以变量权重值(variable important in projection, VIP)>1 指标筛选出 40 种不同工艺的差异化合物(图 2D), 包括 11 个氨基酸类、5 个儿茶素及其二聚物、13 个黄酮(醇)糖苷类、6 个酚酸类、3 个核苷类、2 个其他类化合物, 其中 VIP>1.5 的化合物按照由大到小依次为:  $\gamma$ -氨基丁酸、L-天冬氨酸、没食子酸葡萄糖苷 1、磷酸甘油胆碱、槲皮素双葡萄糖苷、芦丁和杨梅素 3-葡萄糖苷。咖啡碱和 EGCG、ECG、EGC 等茶叶中重要的儿茶素均没有成为差异化合物。

### 2.4 主要差异化合物比较

#### 2.4.1 氨基酸类

氨基酸是茶叶中重要的鲜味物质和香气前体物质, 氨基酸含量也是品种选育的重要指标。如图 3 所示, 本研究筛选出了 L-丙氨酸、L-精氨酸、L-天冬氨酸、L-谷氨酸、L-组氨酸、L-苯丙氨酸、L-亮氨酸、L-赖氨酸、L-酪氨酸、L-茶氨酸和  $\gamma$ -氨基丁酸 11 种氨基酸为手工和机制信阳毛尖

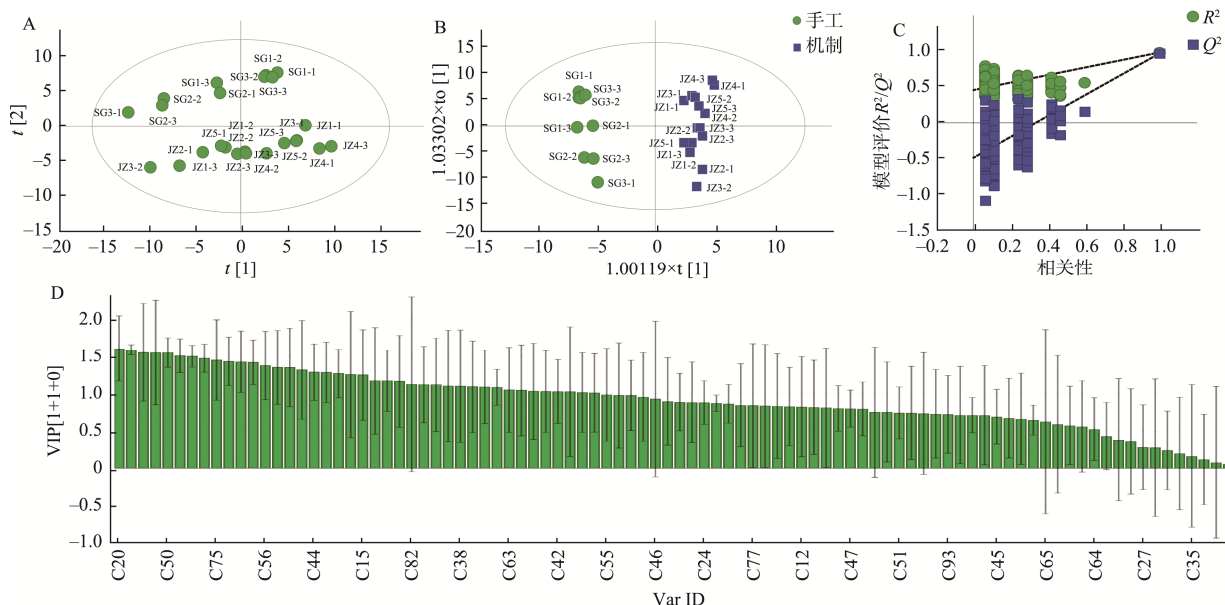


图 2 手工和机制茶的差异性分析的 PCA 得分图(A)、OPLS-DA 得分图(B)、OPLS-DA 模型交叉验证图(C)、VIP 图(D)  
Fig.2 PCA score plot (A), OPLS-DA score plot (B), cross-validation of OPLS-DA model (C) and VIP plot (D) of different analysis between hand-made and machine-made tea

茶的差异氨基酸成分,其中手工信阳毛尖的 *L*-丙氨酸和  $\gamma$ -氨基丁酸高于机制茶,且这两种氨基酸在手工加工过程中呈现含量升高的趋势,其余 9 种氨基酸均低于机制茶。 $\gamma$ -氨基丁酸也是茶叶中重要的氨基酸,具有多种功效,通过茶叶加工过程中厌氧处理可以提高茶叶中的  $\gamma$ -氨基丁酸含量<sup>[20]</sup>,本研究首次发现手工信阳毛尖加工过程中  $\gamma$ -氨基丁酸呈升高趋势,与机械加工变化规律不同,可能是手工杀青“闷”的过程中产生了短时间的厌氧环境导致。此外,11 种差异氨基酸的机制加工过程中没有明显升高趋势,且多数高于手工茶,可能是做茶过程中温度差异导致,有学者也发现手工制西湖龙井茶的天冬氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、缬氨酸、亮氨酸、组氨酸和精氨酸含量低于机制

西湖龙井<sup>[21]</sup>,结论相似。

#### 2.4.2 儿茶素及其氧化物

儿茶素是茶多酚的主要成分,具有抗氧化、抑菌、抗肿瘤等多种功效,也是茶叶中研究和开发利用最多的成分<sup>[22-23]</sup>,绿茶最大限度地保留了鲜叶中的儿茶素含量。本研究共鉴定出 20 种儿茶素及其二聚氧化物,仅有 5 种是差异成分,如图 4 所示,分别为 EC、表阿夫儿茶精-3-没食子酸酯、原花青素 B<sub>1</sub>、聚酯型儿茶素 A、聚酯型儿茶素 F,茶叶含量高的 EGCG、EGC、ECG 均不是差异成分。手工制茶过程样的 EC、表阿夫儿茶精-3-没食子酸酯、原花青素 B<sub>1</sub> 和聚酯型儿茶素 A 含量略高于机制茶,聚酯型儿茶素 F 低于机制茶。

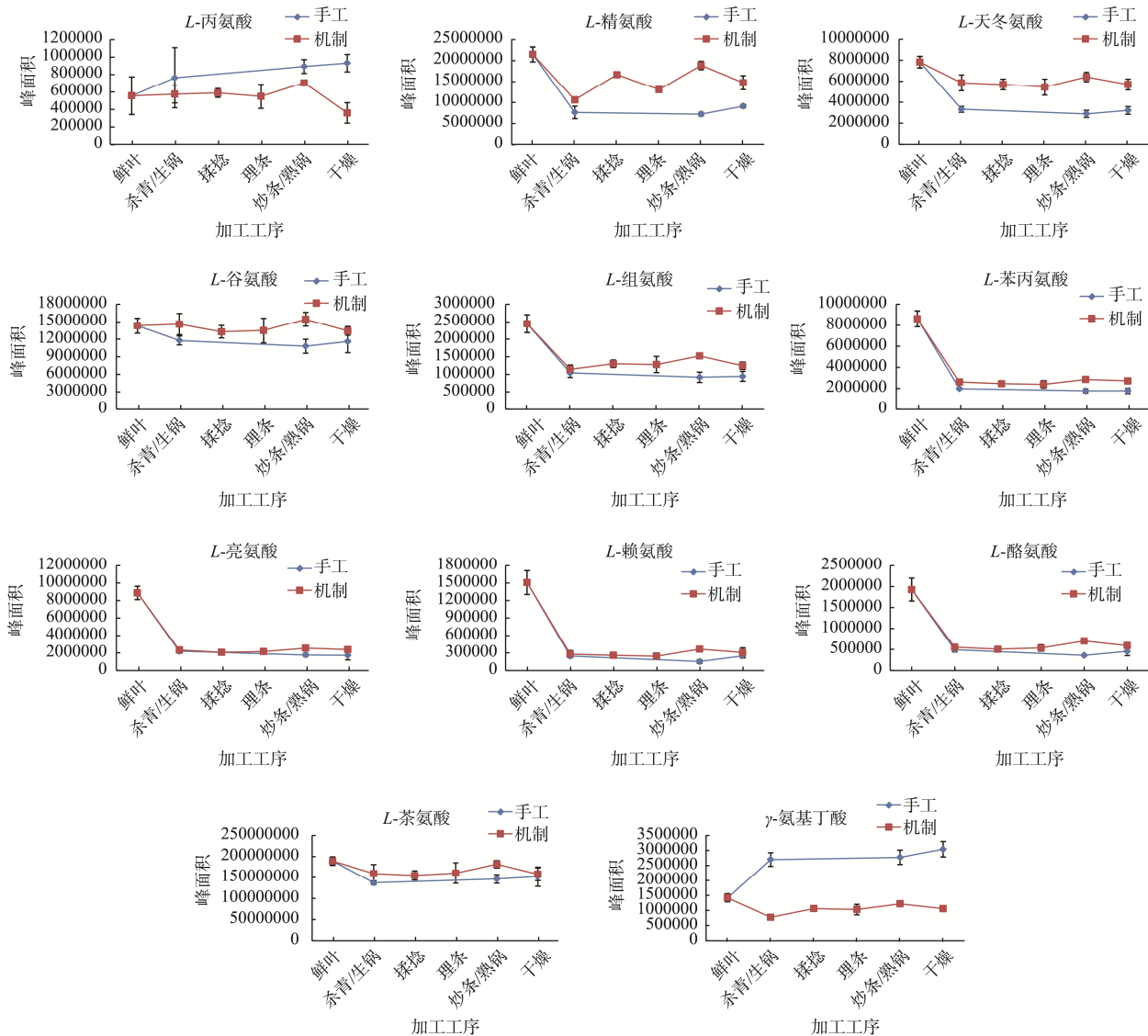


图 3 手工和机制茶加工过程中氨基酸类差异物质变化

Fig.3 Differential compounds changes of amino acid during hand-made and machine-made tea



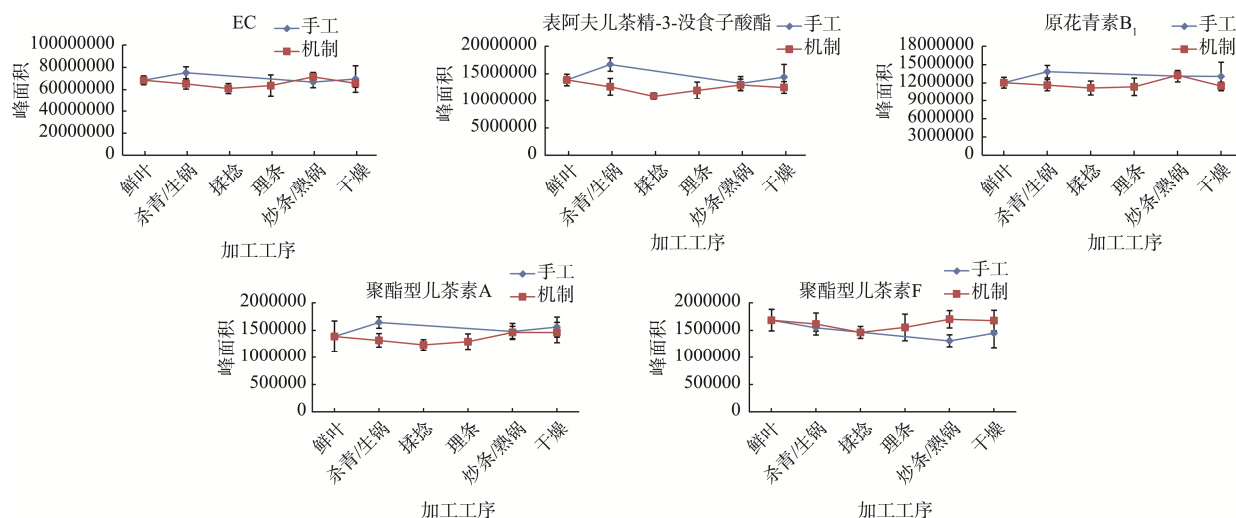


图 4 手工和机制茶加工过程中儿茶素及其二聚物类差异物质变化

Fig.4 Differential compounds changes of catechins and dimeric catechins during hand-made and machine-made tea

几种差异儿茶素及其二聚物的相关氧化途径分析发现, 手工制茶会产生更多的二聚物, 如表阿夫儿茶精-3-没食子酸酯、原花青素 B<sub>1</sub>、聚酯型儿茶素 A 和 TFDG 等。陈义等<sup>[24]</sup>研究发现, 信阳毛尖茶加工过程中简单儿茶素含量先降低后升高, DONLAO 等<sup>[25]</sup>的研究发现 200℃杀青比 300℃杀青保留了更多的 EC 和 EGCG, 高温加速了儿茶素类的热降解, 本研究手工杀青温度低于机制茶可能是其 EC 高于机制茶, 同时杀青温度低于机制茶, 使得儿茶素氧化形成二聚物多。而同为 EGCG 和 ECG 底物形成的 TFDG 和聚酯型儿茶素 F 出现了手工制茶的 TFDG 含量高而机制茶的聚酯型儿茶素 F 含量高, 表明竞争相同底物 EGCG 时, 手工制茶更趋向于茶黄素形成途径。

2.4.3 黄酮及黄酮苷

茶叶中的黄酮类苷元主要为槲皮素、山奈酚、杨梅素和芹菜素, 是茶叶中重要的苦涩味物质。本研究共鉴

定出 28 个黄酮(醇)糖苷, 其中 13 个为差异化合物, 如图 5 所示, 分别为芹菜素-6,8-C-葡萄糖苷、山奈酚 3-O-葡萄糖苷、山奈酚 3-O-芸香糖苷、山奈酚 3-O-半乳糖苷、山奈酚 3-(6"-没食子酰基半乳糖苷)、槲皮素双葡萄糖苷、槲皮素 3-O-葡萄糖基芸香糖苷、槲皮素 3-O-半乳糖苷、杨梅素、杨梅素 3-葡萄糖苷、芦丁、芳樟醇樱草糖苷、槲皮素, 其中手工茶的山奈酚 3-O-半乳糖苷和槲皮素高于机制茶, 其余 11 种黄酮苷类均低于机制茶。绿茶杀青和干燥过程中, 芹菜素、杨梅素、槲皮素和山奈酚的多数糖苷含量降低<sup>[26]</sup>, 本研究也发现, 仅有手工制茶高于的 山奈酚 3-O-半乳糖苷和槲皮素在杀青过程中出现上调趋势, 其余 11 种差异黄酮类含量均在加工过程中下降, 槲皮素是唯一手工和机制过程中均呈现上调趋势的差异黄酮苷类, 含量变化趋势与戴宇樵等<sup>[27]</sup>研究的晒青毛茶加工结论相似。

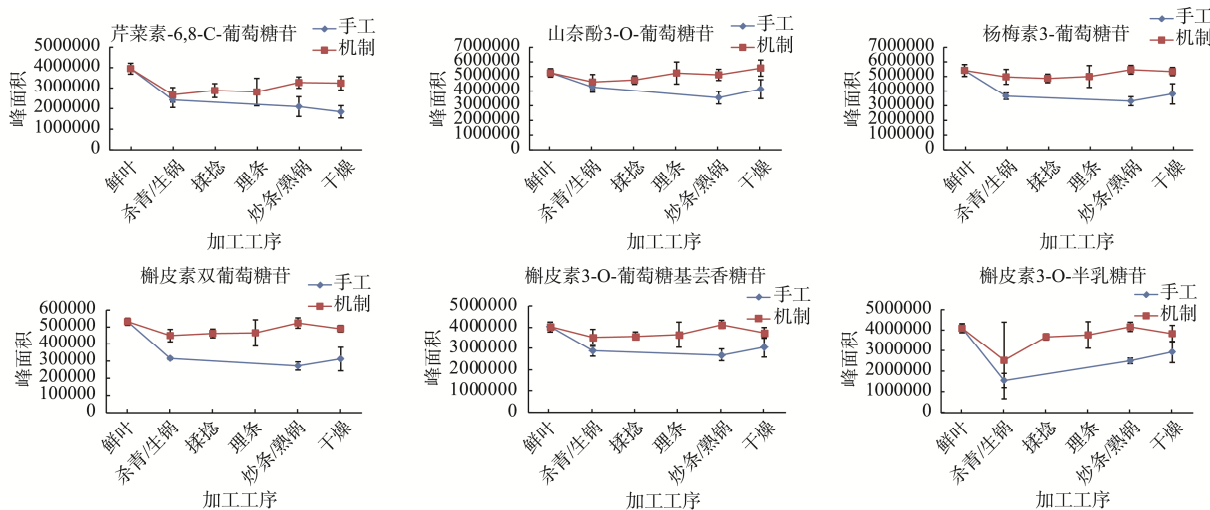


图 5 手工和机制茶加工过程中黄酮苷类差异物质变化

Fig.5 Differential compounds changes of flavonoid glycosides during hand-made and machine-made tea

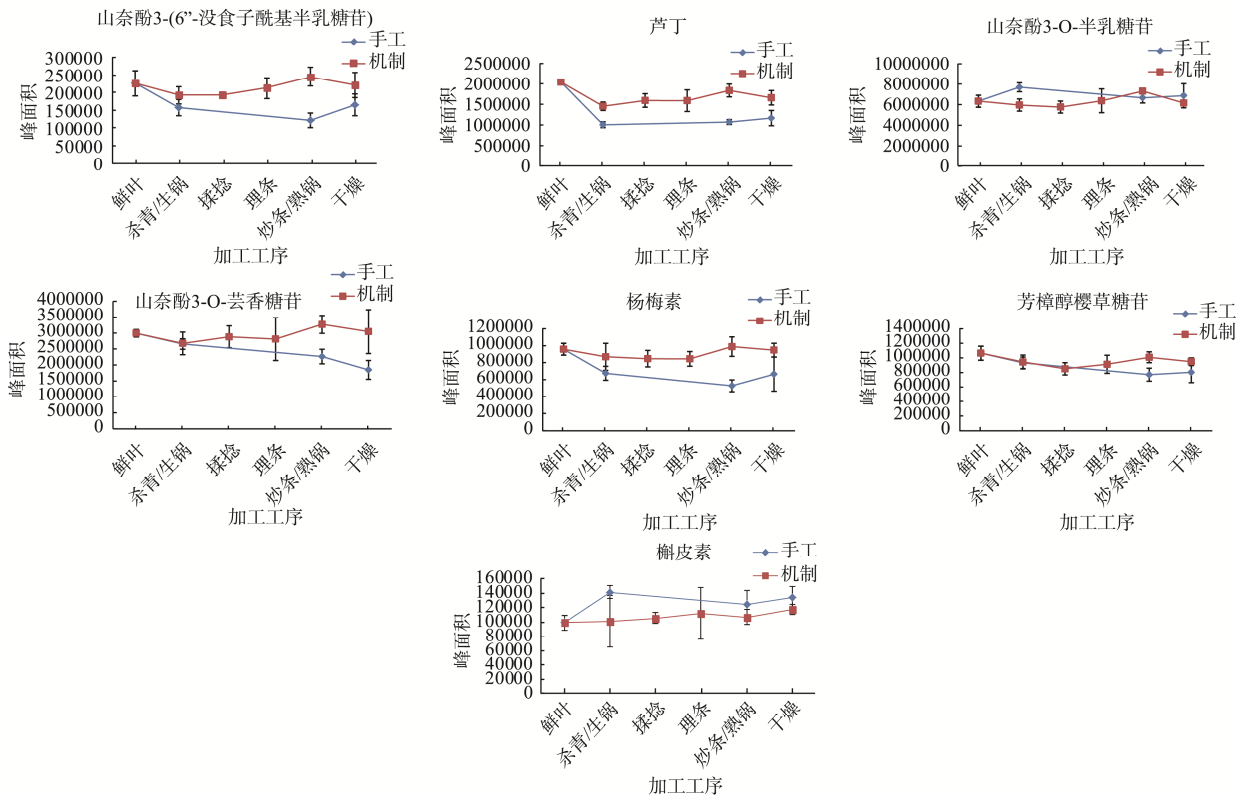


图 5(续) 手工和机制茶加工过程中黄酮苷类差异物质变化

Fig.5 Differential compounds changes of flavonoid glycosides during hand-made and machine-made tea

#### 2.4.4 酚酸

酚酸类化合物对茶叶的鲜味和涩味有重要影响,且对儿茶素的苦涩味具有协同作用<sup>[28]</sup>。本研究共鉴定出 14 个酚酸类化合物,其中 6 种为手工和机制信阳毛尖茶加工过程样的差异化合物,分别为没食子酸酰葡萄糖苷 1、没食子酸酰葡萄糖苷 2、绿原酸、4-对香豆酰基奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、木麻黄素,其中机制茶的绿原酸高于手工茶,其余 5 种酚酸类化合物均低于手工茶。

6 种差异酚酸类化合物在手工和机制加工过程中表现出了不同的变化规律(图 6),手工加工过程中没食子酸酰葡萄糖苷 1、没食子酸酰葡萄糖苷 2、4-对香豆酰基奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和木麻黄素呈现先升高后降低趋势,绿原酸呈现持续降低趋势;机制茶加工过程中没食子酸酰葡萄糖苷 1、没食子酸酰葡萄糖苷 2 和木麻黄素呈现持续降低趋势,4-对香豆酰基奎宁酸呈现缓慢持续升高趋势。

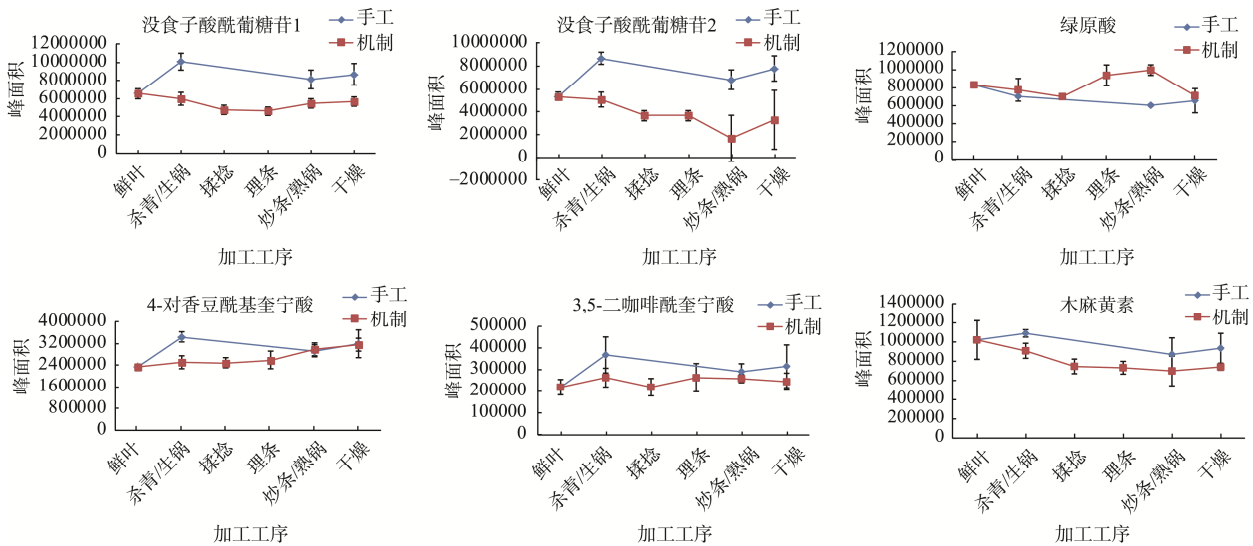


图 6 手工和机制茶加工过程中酚酸类差异物质变化

Fig.6 Differential compounds changes of phenolic acids during hand-made and machine-made tea



#### 2.4.5 其他化合物

此外, 还有其他 5 种手工和机制信阳毛尖茶加工过程样的差异化合物, 分别为腺嘌呤核糖核苷酸(adenosine monophosphate, AMP)、腺苷、5'-甲基磷酸腺苷 3 种核苷类和柠檬酸盐、磷酸甘油胆碱。由图 7 所示, 手工制茶的 AMP、5'-

甲基磷酸腺苷和磷酸甘油胆碱高于机制茶, 腺苷和柠檬酸盐低于机制茶, 与鲜叶相比, 手工制茶和机制茶的 AMP 和腺苷呈现上调趋势, AMP 分别提高了 41.6%和 38.3%, 鲜叶中未检出腺苷, 杀青后出现, 且在机制过程中逐渐升高。5'-甲基磷酸腺苷呈现下调趋势, 与鲜叶相比分别下调了 14.6%和 22.75%。

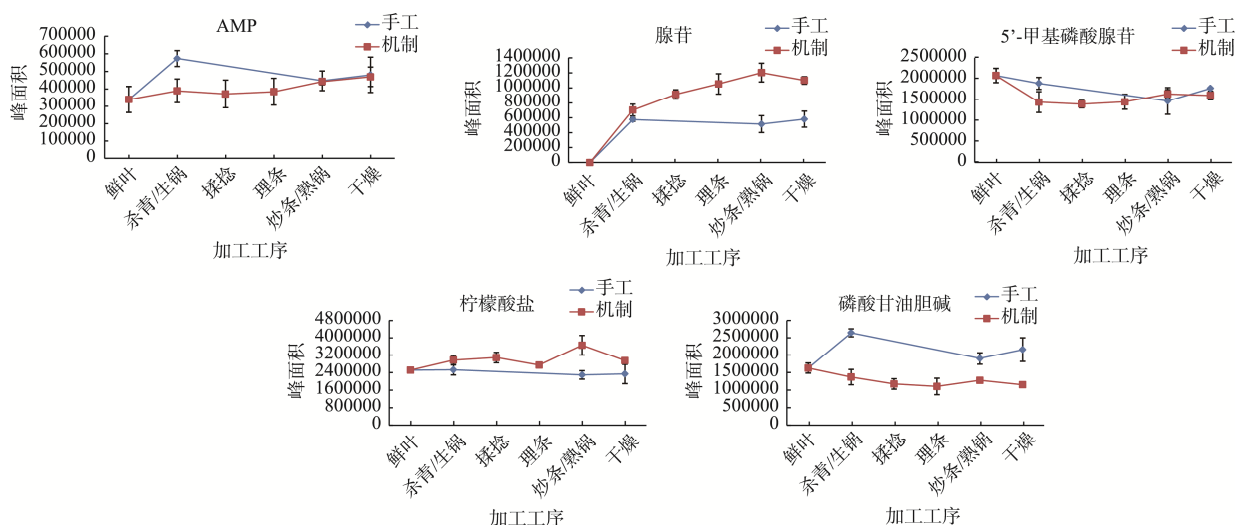


图 7 手工和机制信阳毛尖加工过程中其他差异物质变化

Fig.7 Differential compounds changes of other compounds during hand-made and machine-made tea

### 3 结 论

传统手工和经过改良的现代机械化加工, 是目前信阳毛尖茶加工的两种主要加工方式。两种加工方式制作的信阳毛尖, 感官品质存在一些差异, 一般流传有手工茶品质要优于机制茶的说法。本研究采用代谢组学的分析方法, 采摘相同鲜叶原料, 分别按照手工和机制两种工艺加工制作了信阳毛尖, 利用超高效液相色谱-四极杆轨道质谱仪分析了两种工艺加工的过程茶样, 结合正负离子模式共鉴定出 93 种化合物, 然后采用 PCA 和 OPLS-DA 进行数据分析, 结果发现可以将手工和机制信阳毛尖的过程样较好地进行了区分, 并进一步筛选出两种工艺的差异化化合物 40 种, 包括 11 个氨基酸类、5 个儿茶素及其二聚物、13 个黄酮(醇)糖苷类、6 个酚酸类、3 个核苷类、2 个其他类化合物。通过比较 40 种化合物在两种加工方式过程中的含量差异, 发现机制茶中氨基酸和黄酮类物质高于手工茶, 而手工茶由于杀青温度低、酶失活缓慢, 加工过程中形成了更多的儿茶素二聚物。对比 WANG 等<sup>[29]</sup>研究不同来源的手工和机制信阳毛尖 66 个, 鉴定了 1192 个离子碎片, 并没有发现手工和机制茶的化学成分存在显著差异, 可见, 综合了茶树品种、海拔高度、不同的加工条件等诸多影响茶叶品种的条件后, 不能完全判定手工茶和机制茶在

哪些化合物上存在显著差异。本研究初步分析了手工和机制信阳毛尖茶的主要差异化化合物, 其代谢组学数据有待进一步挖掘, 建议可以结合蛋白组学和脂质组学等多组学分析技术手段, 继续开展更为全面的信阳毛尖茶化合物分析研究<sup>[30-31]</sup>。

#### 参考文献

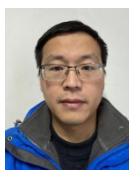
- [1] 张巧萍, 聂胜委, 张玉亭, 等. 信阳毛尖春茶, 夏茶的品质现状及标准浅析[J]. 西南农业学报, 2015, 28(1): 94-98.  
ZHANG QP, NIE SW, ZHANG YT, *et al.* Analysis of quality of Xinyang Maojian under spring tea and summer tea based on actual investigations [J]. Southwest China J Agric Sci, 2015, 28(1): 94-98.
- [2] 章恩宽, 徐彬, 王娟娟. 信阳毛尖茶传统手工炒制技艺[J]. 茶叶通讯, 2013, 40(2): 27-28.  
ZHANG ENK, XU B, WANG JJ. Traditional hand frying technology of Xinyang Maojian [J]. Tea Commun, 2013, 40(2): 27-28.
- [3] 王晶晶, 朱尧, 张嘉琳, 等. 信阳毛尖茶干燥工艺参数的优化[J]. 食品科技, 2023, 48(5): 70-75.  
WANG JJ, ZHU Y, ZHANG JL, *et al.* Optimization of drying process parameters of Xinyang Maojian tea [J]. Food Sci Technol, 2023, 48(5): 70-75.
- [4] 孙慕芳, 陈义. 春季 5 个等级信阳毛尖茶品质成分分析[J]. 食品研究

- 与开发, 2014, 35(14): 76–79.
- SUN MF, CHEN Y. Analysis of quality component of five grades Xinyang Maojian tea in spring [J]. Food Res Dev, 2014, 35(14): 76–79.
- [5] 王淑慧, 宋沙沙, 曹学丽. 基于滋味成分 HPLC 指纹图谱的判别分析及相似度评价在信阳毛尖茶分等定级中的应用[J]. 食品科学, 2019, 40(8): 180–185.
- WANG SH, SONG SS, CAO XL. Application of discriminant analysis and similarity evaluation of HPLC fingerprints of flavor components in Xinyang Maojian tea grading [J]. Food Sci, 2019, 40(8): 180–185.
- [6] 吴淑平, 蔡一鸣, 王杉, 等. 不同采摘期对信阳毛尖茶生化成分及品质的影响[J]. 山东农业科学, 2018, 50(10): 57–60.
- WU SP, CAI YM, WANG S, *et al.* Effects of different picking periods on biochemical components and quality of Xinyang Maojian tea [J]. Shandong Agric Sci, 2018, 50(10): 57–60.
- [7] 刘玉霞, 张洁, 赵仁亮, 等. 不同品种信阳毛尖茶的品质和化学成分比较研究[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(16): 3816–3819.
- LIU YX, ZHANG J, ZHAO RL, *et al.* Comparing chemical components and organoleptic quality of Xinyang Maojian tea with different varieties [J]. Hubei Agric Sci, 2014, 53(16): 3816–3819.
- [8] ZHANG XH, LIU RJ, XHRNG JJ, *et al.* Authentication of the production season of Xinyang Maojian green tea using two-dimensional fingerprints coupled with chemometric multivariate calibration and pattern recognition analysis [J]. LWT, 2023, 176: 1–9.
- [9] 陈凌芝, 卫艺炜, 陈义, 等. 不同季节信阳毛尖茶主要生化成分及其矿物质元素差异性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(17): 87–94.
- CHEN LZ, WEI YW, CHEN Y, *et al.* Analysis on the difference of main biochemical components and mineral elements of Xinyang Maojian tea harvested in different seasons [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(17): 87–94.
- [10] 陈义, 杨转, 郭桂义. 传统手工信阳毛尖加工过程中主要滋味物质变化规律[J]. 食品科技, 2019, 44(12): 74–78.
- CHEN Y, YANG Z, GUO GY. The change pathern of the main taste substances during the traditional processing technologies of Xinyang Maojian [J]. Food Sci Technol, 2019, 44(12): 74–78.
- [11] 刘建军, 李美凤, 张静, 等. 传统工艺与现代工艺对信阳毛尖品质的影响[J]. 茶叶科学, 2016, 36(6): 594–602.
- LIU JJ, LI MF, ZHANG J, *et al.* Effects of traditional and modern processing technologies on the quality of Xinyang Maojian tea [J]. J Tea Sci, 2016, 36(6): 594–602.
- [12] 王伟伟, 陈义, 张建勇, 等. 代谢组学应用于茶叶加工和品质分析的研究进展[J]. 食品科技, 2022, 47(12): 74–81.
- WANG WW, CHEN Y, ZHANG JY, *et al.* Research progress of metabonomics applied to tea processing and quality analysis [J]. Food Sci Technol, 2022, 47(12): 74–81.
- [13] 徐天润, 刘心昱, 许国旺. 基于液相色谱-质谱联用技术的代谢组学分析方法研究进展[J]. 分析测试学报, 2020, 39(1): 10–18.
- XU TR, LIU XY, XU GW. Advances of analytical methods for liquid chromatography-mass spectrometry-based metabolomics [J]. J Instrum Anal, 2020, 39(1): 10–18.
- [14] DAI W, HU Z, XIE D, *et al.* A novel spatial-resolution targeted metabolomics method in a single leaf of the tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. Food Chem, 2020, 311: 1–9.
- [15] ZENG L, JIN S, FU YQ, *et al.* A targeted and untargeted metabolomics analysis of ‘Oriental Beauty’ oolong tea during processing [J]. Beverage Plant Res, 2022, 2(1): 164–173.
- [16] YANG C, HUZY, LU ML, *et al.* Application of metabolomics profiling in the analysis of metabolites and taste quality in different subtypes of white tea [J]. Food Res Int, 2018, 106: 909–919.
- [17] CHEN QC, SHI J, MU B, *et al.* Metabolomics combined with proteomics provides a novel interpretation of the changes in nonvolatile compounds during white tea processing [J]. Food Chem, 2020, 332: 1–10.
- [18] WU WY, HUANG XJ, LIU SR, *et al.* Understanding the formation mechanism of oolong tea characteristic nonvolatile chemical constituents during manufacturing processes by using integrated widely-targeted metabolome and DIA proteome analysis [J]. Food Chem, 2020, 310: 1–8.
- [19] LI CX, LIN JQ, HU QC, *et al.* An integrated metabolomic and transcriptomic analysis reveals the dynamic changes of key metabolites and flavor formation over Tieguanyin oolong tea production [J]. Food Chem, 2023, 20: 1–13.
- [20] DAI WD, XIE DC, LIN ZY, *et al.* A nontargeted and targeted metabolomics study on the dynamic changes in metabolite levels during the anaerobic treatment of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) tea [J]. LWT, 2020, 126: 1–9.
- [21] 崔宏春, 张建勇, 敖存, 等. 不同加工工艺西湖龙井茶品质差异特性分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(13): 268–273.
- CUI HC, ZHANG JY, AO C, *et al.* Difference quality characteristics of Xihu Longjing tea with different processing technology [J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(13): 268–273.
- [22] CHENG Z, ZHANG Z, HAN Y, *et al.* A review on anti-cancer effect of green tea catechins [J]. J Funct Foods, 2020, 74: 1–20.
- [23] 刘仲华, 黄建安, 龚雨顺, 等. 茶叶功能成分的健康作用研究新进展[J]. 中国茶叶, 2021, 43(9): 1–11.
- LIU ZH, HUANG JAN, GONG YS, *et al.* New progress in health benefits of functional components of tea [J]. China Tea, 2021, 43(9): 1–11.
- [24] 陈义, 张永瑞, 邢娜, 等. 半机械半手工信阳毛尖加工过程中主要滋味物质变化规律[J]. 食品科技, 2020, 45(4): 61–65.
- CHEN Y, ZHANG YR, XING N, *et al.* Change rule of main flavor substance in the process of semi-mechanical and semi-manual Xinyang Maojian [J]. Food Sci Technol, 2020, 45(4): 61–65.
- [25] DONLAO N, OGAWA Y. The influence of processing conditions on catechin, caffeine and chlorophyll contents of green tea (*Camellia sinensis*)

- leaves and infusions [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2019, 116: 1–8.
- [26] LI PL, ZHU Y, LU ML, *et al.* Variation patterns in the content of glycosides during green tea manufacturing by a modification-specific metabolomics approach: Enzymatic reaction promoting an increase in the glycosidically bound volatiles at the pan firing stage [J]. *Food Chem*, 2019, 279: 80–87.
- [27] 戴宇樵, 吕有才, 何鲁南, 等. 基于代谢组学的“云抗 10 号”晒青茶加工过程代谢物变化[J]. *中国农业科学*, 2020, 53(2): 357–370.
- DAI YQ, LV YC, HE LN, *et al.* Metabolic changes in the processing of yunkang 10 sun-dried green tea based on metabolomics [J]. *Sci Agric Sin*, 2020, 53(2): 357–370.
- [28] 张燕红. 典型酚酸类化合物的呈味特性及对绿茶茶汤苦涩味的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2019.
- ZHANG YH. The taste characteristics of typical phenolic acids and their effect on the bitterness and astringency of green tea infusion [D]. Hefei: Anhui Agric University, 2019.
- [29] WANG HJ, CAO XL, YUAN ZF, *et al.* Untargeted metabolomics coupled with chemometrics approach for Xinyang Maojian green tea with cultivar, elevation and processing variations [J]. *Food Chem*, 2021, 352(8): 1–10.
- [30] 倪天宸. 基于组学联用技术的茶鲜叶摊放过程中品质形成机理研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2021.
- NI TC. Research on the quality formation of fresh tea leaves during withering process using a multi-omics approach [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2021.
- [31] 赵燕妮, 陈丹, 陈雪峰, 等. 基于脂质组学的不同原料茯茶“发花”前后脂类变化研究[J]. *陕西科技大学学报*, 2021, 39(3): 40–47.
- ZHAO YN, CHEN D, CHEN XF, *et al.* Study on the change of lipids before and after fungal-fermentation process of Fu brick tea with different raw materials based on lipidomics [J]. *J Shanxi Univ Sci Technol*, 2021, 39(3): 40–47.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

## 作者简介



王伟伟, 硕士, 主要研究方向为茶叶加工与质量控制。

E-mail: wangwei11211@tricaas.com



江和源, 博士, 研究员, 主要研究方向为茶叶化学与加工。

E-mail: jianghy@tricaas.com