

茎和叶对祁门红茶品质的贡献分析

周汉琛, 杨霁虹, 刘亚芹, 王 辉, 徐玉婕, 黄建琴, 雷攀登*
(安徽省农业科学院茶叶研究所, 安徽 黄山 245000)

摘要: 为探究叶片、茎对祁门红茶品质的贡献, 本研究以‘鳊早2号’茶树品种为实验材料, 将其嫩叶、嫩茎、单芽和完整芽叶(一芽二叶为主)分别制成红茶, 通过气相色谱-质谱、液相色谱-质谱结合感官审评、喜好度评价, 深入分析4种红茶的香气、滋味品质及代谢物差异。结果表明, 4种红茶香气类型均为甜香型, 一芽二叶红茶甜香较高; 芽红茶滋味鲜爽度较高; 嫩茎加工红茶喜好度评价得分最高。代谢物分析显示, 儿茶素类物质含量在芽红茶中最高, 在茎红茶中最低; 游离氨基酸在茎红茶中显著富集, 达到80 mg/g; 槲皮素及其芸香糖苷在茎红茶中含量较高, 而山柰酚-3-O-葡萄糖苷及其芸香糖苷在叶片红茶中含量最高。4类红茶的茶红素类/茶黄素类比值分别为11.6(一芽二叶红茶)、9.4(芽红茶)、14.6(叶红茶)和8.2(茎红茶)。挥发性代谢物分析显示, 茎红茶中的挥发性物质总量(32.37 $\mu\text{g/g}$)显著低于芽红茶(100.01 $\mu\text{g/g}$)、叶片红茶(95.67 $\mu\text{g/g}$)及完整芽叶红茶(92.42 $\mu\text{g/g}$); 苯甲醛、苯乙醛及吲哚在茎红茶中含量较高, 而 β -紫罗兰酮、 α -紫罗兰酮及芳樟醇氧化物在叶片红茶中的含量较高。本研究结果表明, 嫩茎富含游离氨基酸及叶片中丰富的糖苷类香气前体物质对祁门红茶品质形成具有重要作用。

关键词: 祁门红茶; 感官审评; 滋味成分; 挥发性化合物; 糖苷类香气前体

Contribution of Stems and Leaves to the Quality of Keemun Black Tea

ZHOU Hanchen, YANG Jihong, LIU Yaqin, WANG Hui, XU Yujie, HUANG Jianqin, LEI Pandeng*
(Tea Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Huangshan 245000, China)

Abstract: In order to understand the contribution of stems and leaves to the quality of Keemun black tea, this study analyzed the differences in aroma, taste quality and metabolites among black tea manufactured from tender leaves, tender stems, single buds and intact buds with leaves (mainly one bud with two leaves) from the tea variety ‘Fuzao 2’ by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), sensory evaluation, and preference evaluation. The results showed that all four black teas were sweet aroma type, and the bud-leaf tea had a strong sweet aroma. The single-bud tea had a fresh and brisk taste. The tender-stem tea scored highest in preference evaluation. Metabolite analysis showed the content of catechins was the highest in the single-bud black tea and the lowest in the tender-stem black tea, while free amino acids were significantly enriched in the tender-stem black tea, reaching up to 80 mg/g. The contents of quercetin and rutin were higher in the stem black tea, while the contents of kaempferol-3-O-glucoside and kaempferol-3-O-rutinoside were the highest in the leaf black tea. The ratio of thearubigins to theaflavins was 11.6, 9.4, 14.6, and 8.2 in black tea made from intact buds with leaves, buds, leaves, and tender stems, respectively. The total amount of volatile compounds in the tender-stem black tea (32.37 $\mu\text{g/g}$) was significantly lower than that in the bud (100.01 $\mu\text{g/g}$), leaf (95.67 $\mu\text{g/g}$), and bud-leaf black tea (92.42 $\mu\text{g/g}$). The contents of benzaldehyde, benzeneacetaldehyde and indole were higher in the tender stem black tea, while the contents of β -ionone, α -ionone and linalool oxide in the leaf black tea were higher than those in the other three black teas. This study shows that high contents of theanine in tender stems and glycoside aroma precursors in tea leaves contribute primarily to the formation of the quality of Keemun black tea.

Keywords: Keemun black tea; sensory evaluation; flavor compounds; volatile compounds; glycoside compounds

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230328-267

中图分类号: S571.1; O657.7; Q344+.13 文献标志码: A 文章编号: 1002-6630(2023)24-0220-09

收稿日期: 2023-03-28

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(32002069); 安徽省科技重大专项(202003a06020019); 安徽省农业科学院青年英才计划项目(QNYC-202119)

第一作者简介: 周汉琛(1989—)(ORCID: 0000-0002-9844-5029), 女, 副研究员, 博士, 研究方向为茶叶生物化学及分子生物学。E-mail: Tuesday1011@163.com

*通信作者简介: 雷攀登(1983—)(ORCID: 0000-0002-5140-0675), 男, 副研究员, 硕士, 研究方向为茶叶加工。E-mail: Lpteagle@126.com

引文格式:

周汉琛, 杨霁虹, 刘亚芹, 等. 茎和叶对祁门红茶品质的贡献分析[J]. 食品科学, 2023, 44(24): 220-228. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230328-267. <http://www.spkx.net.cn>

ZHOU Hanchen, YANG Jihong, LIU Yaqin, et al. Contribution of stems and leaves to the quality of Keemun black tea[J]. Food Science, 2023, 44(24): 220-228. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230328-267. <http://www.spkx.net.cn>

祁门红茶是我国著名的红茶产品, 其汤色红艳、滋味醇厚、蜜香花果香明显, 深受消费者喜爱。近年来, 为适应茶叶消费市场需求, 推出不同类型的祁门红茶产品, 如祁红香螺、祁红毛峰及祁红金针^[1]。不同类型的祁门红茶对鲜叶原料要求存在差异, 尤其是祁红金针加工原料多是单芽或一芽一叶, 鲜叶嫩度要求较高。此外, 鲜叶嫩度还是决定红茶产品等级的重要因素。

研究表明, 鲜叶采摘标准与红茶品质成分变化存在相关性^[2]。Wu Yahui等^[3]的研究显示, 与茶叶滋味密切相关的黄酮苷类物质在茶梢不同部位的积累差异较大, 如山柰酚-3-*O*-半乳糖苷、山柰酚-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷均在第二叶中含量最高, 而槲皮素-3-*O*-半乳糖苷、槲皮素-3-*O*-芸香糖苷则在嫩茎中的含量较高。Zeng Lanting等^[4]的研究表明, 滋味成分茶氨酸在茶树嫩茎中的含量较高, 而花香类挥发性化合物如茉莉酮、吲哚、橙花叔醇在茶树叶片中含量较高。研究表明, 儿茶素代谢随着细胞衰老程度发生改变^[5], 如酯型儿茶素合成途径关键酶基因*CsSCPL4*和*CsSCPL5*在嫩芽中的表达水平显著高于叶片和茎^[6], 而其分解代谢途径关键酶基因*CsTA*在发育成熟度较高的叶片中表达量较高^[7]。这些研究表明, 茶树嫩梢不同部位积累的品质成分存在差异, 与次级代谢通路中关键酶基因的差异表达密切相关, 影响成品茶的风味品质。

为分析茶树嫩梢不同部位对祁门红茶品质的贡献, 以‘鬼早2号’茶树品种为实验材料, 在同一加工工艺下, 将其嫩叶、嫩茎、单芽头、完整芽叶(一芽二叶)加工成红茶样, 并通过气相色谱-质谱、液相色谱-质谱联用技术分析不同类型红茶中的挥发性物质及滋味物质变化, 以期获得茶树新梢嫩度影响红茶品质的重要因子, 为红茶加工原料选择及品质分析提供理论参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

供试茶树品种为‘鬼早2号’, 选育于安徽祁门县, 红茶加工适制性较好^[8]。所用为7 a生茶树, 于4月中旬采摘一芽二叶, 后将完整芽叶按照不同部位进行手工分离, 得到单芽、叶片、嫩茎各约1.0 kg, 取1.0 kg一芽二叶新梢作为对照原料。

7种儿茶素类物质标准品, 包括没食子酸、儿茶素、表儿茶素、表没食子儿茶素、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯和没食子儿茶素没食子酸酯; 咖啡碱标准品; 黄酮及其黄酮苷类物质, 包括槲皮素、杨梅素、槲皮素-3-*O*-芸香糖苷、杨梅素-3-*O*-半乳糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、山柰酚-3-*O*-葡萄糖苷和山柰酚-3-*O*-芸香糖苷, 均购于上海源叶生物科技有限公司; 挥发性化合物标准品及正构烷烃($C_5 \sim C_{20}$)购于美国Sigma-Aldrich公司。

1.2 仪器与设备

50/30 μm 二乙烯基苯/羧基/聚二甲基硅氧烷纤维头、萃取手柄 美国Supelco公司; 7697A-7890A气相色谱-质谱联用仪、气相色谱柱DB-5MS、LC/Q-TOF 6545四极杆飞行时间液质联用系统 美国安捷伦公司; LCMS-8040三重四极杆液相色谱-质谱联用仪 日本岛津公司。

1.3 方法

1.3.1 红茶加工

加工工艺流程与主要技术参数: 鲜叶依次经过室内自然摊放(14~15 h, 温度13~15 $^{\circ}\text{C}$) → 室内控温萎凋(摊叶厚度0.5~1 cm, 5~7 h, 温度28~30 $^{\circ}\text{C}$) → 揉捻55 min(15型揉捻机, 空揉30 min, 轻压15 min, 重压10 min) → 人工解块 → 发酵室发酵(自动控温热蒸汽发生器, 温度23~25 $^{\circ}\text{C}$, 湿度 $\geq 95\%$, 1.5~3 h) → 斗式烘干机烘干(初烘温度115 $^{\circ}\text{C}$ 6 min; 摊凉回潮40 min; 足火温度80 $^{\circ}\text{C}$ 25 min)。以一芽二叶、单芽、嫩叶、嫩茎为原料制备的红茶样品分别标记为FSBT、BBT、LBT、SBT(图1)。红茶样品贮藏于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱, 用于后续代谢物分析。

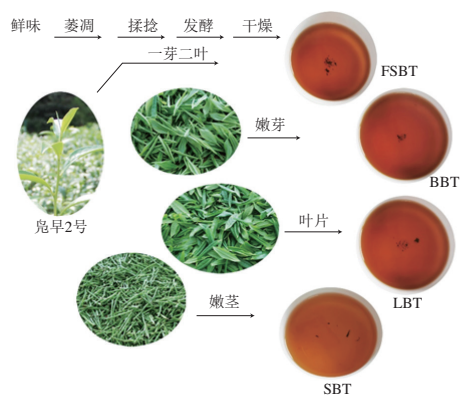


图1 红茶加工流程及样品

Fig. 1 Processing and infusion samples of black tea

1.3.2 感官审评

感官审评由6位审评人员依据GB/T 23776—2018《茶叶感官审评方法》中红茶审评办法对4个红茶样的香气、滋味、汤色进行描述。具体步骤：准确称取3.0 g茶样，于150 mL 98 °C水中冲泡5 min后倒出茶汤，其中叶底用于香气品质审评，茶汤用于滋味、汤色审评。60名评茶人员进行喜好度评价，通过以下标准对茶汤赋分：不喜欢（0~2分）、一般（2~4分）、喜欢（4~6分）；比较喜欢（6~8分）；非常喜欢（8~10分）。

1.3.3 挥发性化合物测定

准确称取0.5 g红茶粉，加入10 mL沸水、1 μL 10 mg/L癸酸乙酯，利用50/30 μm二乙烯基苯/羧基/聚二甲甲基硅氧烷纤维头于70 °C水浴吸附40 min。每个样品重复3次。

纤维头吸附结束后，立即于气相质谱联用仪进样口解吸附5 min，进样口温度为260 °C，不分流。色谱柱为DB-5MS（30 m×0.25 mm，0.25 μm），色谱柱升温程序：40 °C 5min；以4 °C/min速率升到200 °C并停留2 min；以10 °C/min速率升到280 °C并停留5 min。载气为高纯氮气（>99.99%），其中载气流速为1 mL/min。其他参数：离子源温度230 °C；四极杆温度150 °C；电子能量70 eV；质量扫描范围 m/z 30~600。

利用正构烷烃计算化合物保留指数（retention index, RI），并与NIST网站（<https://webbook.nist.gov/chemistry/>）已发表数据进行比对。化合物定量采用样品中化合物峰面积与标准品或内标峰面积之比计算相对含量（μg/kg或μg/g）。

1.3.4 儿茶素、咖啡碱、游离氨基酸、茶色素分析

茶汤主要滋味成分的提取、分析方法（包括儿茶素、咖啡碱、游离氨基酸分析）参考文献[9]中的方法。茶黄素（theaflavins, TFs）、茶红素（thearubigins, TRs）、茶褐素含量测定采用系统分析法^[10]。

1.3.5 黄酮及黄酮苷类物质分析

黄酮及黄酮苷类物质分析采用三重四极杆液质联用仪。参考文献[11]的方法，准确称取60 mg样品，加入4 mL体积分数80%的预冷甲醇溶液，超声10 min；10 000 r/min离心5 min后取上清液。分析前采用0.22 μm有机系滤头过滤样品用于上样。

分析色谱柱为ZORBAX SB-C₁₈（3 mm×150 mm，1.8 μm），流动相及运行梯度与文献[11]中方法一致。化合物提取离子分别为槲皮素（ m/z 301）、杨梅素（ m/z 317）、槲皮素-3-*O*-芸香糖苷（ m/z 609）、杨梅素-3-*O*-半乳糖苷（ m/z 479）、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷（ m/z 463）、山奈酚-3-*O*-葡萄糖苷（ m/z 447）和山奈酚-3-*O*-芸香糖苷（ m/z 593）。

1.3.6 糖苷类香气前体物质分析

样品提取、分析方法与文献[12]中一致。分析仪器为四极杆飞行时间串联质谱仪，运行模式为负离子模式，化合物提取离子分别为芳樟基樱草糖苷（ m/z 493）、香叶基樱草糖苷（ m/z 493）、芳樟基葡萄糖苷（ m/z 361）、香叶基葡萄糖苷（ m/z 361）、苯甲基葡萄糖苷（ m/z 315）、苯甲基樱草糖苷（ m/z 447）、苯乙基樱草糖苷（ m/z 461）。以上糖苷香气前体物质均通过与标准品比对进行定性分析。

1.3.7 基因定量分析

取‘鬼早2号’茶树品种叶片、嫩茎鲜叶样置于液氮中，于-80 °C冰箱保存以用于基因定量表达分析。RNA提取试剂、反转录程序及定量程序均与文献[13]中一致。所用引物为*CsPDX2.1*（F-GTACGGCAGATAAAGTGATCGTTGC，R-AATGCTGCTACTTGAGGCTCCTTCT）、*CsTSB2*（F-AATAAGGAAGACTGGGTTGGGAACCTT，R-CCCACTTCTCCATAGCCTGTTTTCT）和*CsTSA*（F-CTACTCTCAGTGCCATCCCAAGTGT，R-TAAGTGCTGCTGCTGTTGTTGAAAG）。

1.4 数据分析

利用SPSS 19.0软件中的Duncan算法进行代谢物及基因表达差异分析（ $P<0.05$ ）。利用SIMCA 14.0软件对不同样品中的代谢物进行主成分分析（principal component analysis, PCA）。

2 结果与分析

2.1 红茶感官审评及喜好度评价

感官审评结果如表1所示，完整芽叶（一芽二叶）红茶甜香浓郁且滋味醇厚，汤色鲜艳红亮，但茶汤鲜爽度弱于芽红茶；嫩叶红茶具有甜香特征，但茶汤爽口度较差；嫩茎加工的红茶香气较低，整体具有甜香特征，且汤色较淡。喜好度评价中单叶加工的红茶得分最低，嫩茎加工的红茶得分最高，一芽二叶和单芽加工的红茶评价差距较小。

表1 红茶感官审评及喜好度评价得分

样品	香气	滋味	汤色	喜好度得分
FSBT	甜香浓郁	醇厚爽口	红亮	7.1±1.7
BBT	鲜甜	醇厚鲜爽	红较亮	7.1±1.8
LBT	甜香	醇厚稍欠爽	较红亮	6.6±1.9
SBT	尚甜	纯和	橙红亮	7.9±1.8

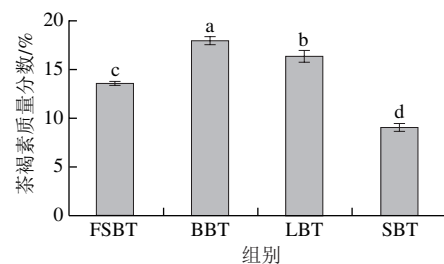
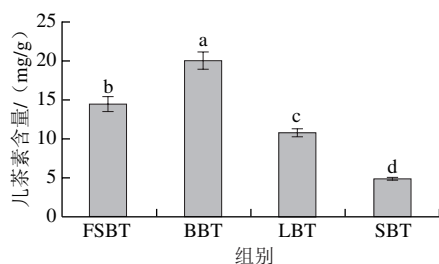
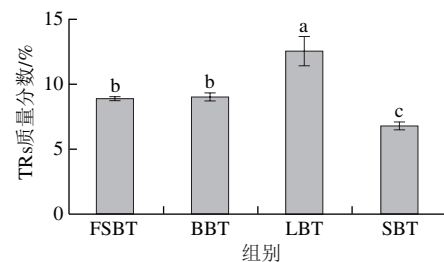
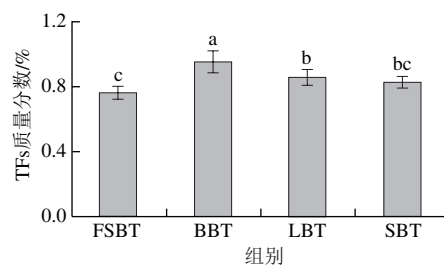
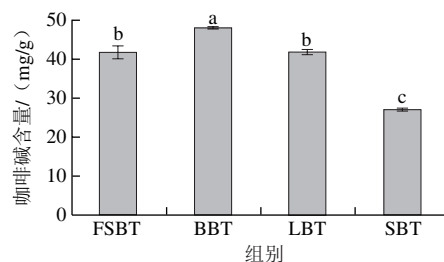
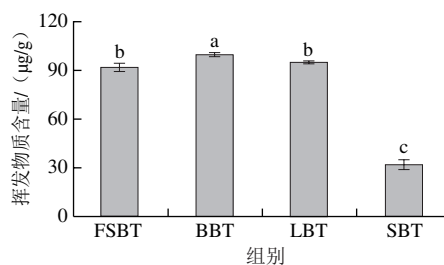
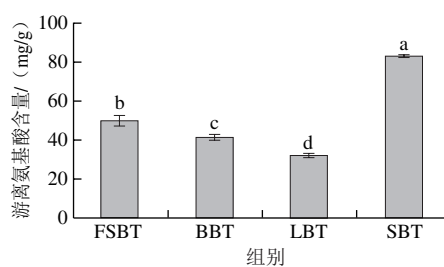
2.2 红茶主要品质成分分析

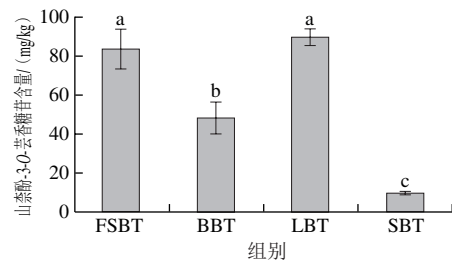
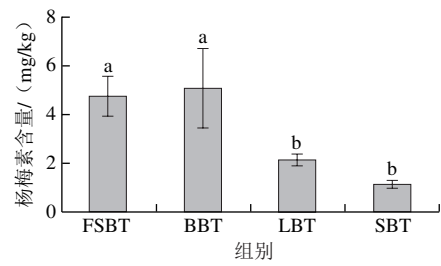
本研究分析了7种儿茶素类物质在4类红茶中含量差异，结果如图2所示，单芽红茶中的儿茶素物质总量最

高,嫩茎红茶中的儿茶素物质含量最低,但嫩茎红茶中的游离氨基酸总量(尤其是茶氨酸)显著高于其他3类红茶。咖啡碱在茎红茶中的含量最低,在单芽红茶中的含量最高。红茶中的挥发性物质总量以单芽红茶中最高;叶片红茶与一芽二叶红茶中的含量没有显著差异,而嫩茎红茶中的挥发性物质总量显著低于其他品类红茶。对祁门红茶研究显示儿茶素类物质滋味物质贡献度(dose-over-threshold, Dot)较低^[14],约为0.0~0.9。一般认为Dot值>1对茶汤滋味贡献较大。咖啡碱在祁门红茶中的Dot值约为2~3,对茶汤的苦味有贡献^[14],而游离氨基酸对茶汤鲜味、甜味有贡献^[15]。本研究中咖啡碱在茎红茶中的含量显著低于其他红茶,而游离氨基酸含量较高,这使得其茶汤纯和,收敛性较弱,推测是喜好度评价中茎红茶得分较高的原因之一。

茶色素与红茶茶汤颜色、滋味密切相关,其中TFs具有收敛性及涩味属性,其4种单体物质在祁门红茶中的Dot值约为0.5~0.6^[14];TRs则对红茶汤滋味厚度、颜色贡献较大^[16]。TFs类物质在芽红茶中的含量最高,TRs类物质在叶片红茶中的含量最高,在茎红茶中的含量最低,而茶褐素类物质在芽红茶中的含量显著高于其他红茶(图2)。结合感官审评,叶片红茶汤色较暗,与其TRs、茶褐素类物质含量较高相关;芽头红茶中含有较高含量的茶褐素类物质,影响其汤色亮度;茎红茶中的TRs类物质含量较低,使得其汤色红度不够。李建芳等^[17]研究显示TRs/TFs值约为11时,红茶汤感官品质较佳。本研究中4类红茶的TRs/TFs值分别为11.6(FSBT)、9.4(BBT)、14.6(LBT)和8.2(SBT),与感官审评结果较为一致。

黄酮及黄酮苷类物质在4类红茶中的分布呈现差异化,槲皮素及其芸香糖苷均在茎红茶茶汤中较高,而其葡萄糖苷在叶片红茶中较为丰富。杨梅素在单芽红茶中的含量最高;山柰酚-3-O-葡萄糖苷及其芸香糖苷在叶片红茶中的含量最高。研究显示芦丁(槲皮素-3-O-芸香糖苷)阈值极低,约为0.001 15 μmol/L,在红茶茶汤中的滋味活性值较高,对茶汤甜味有显著负影响^[18]。山柰酚-3-O-芸香糖苷具有涩味属性,在祁门红茶中的Dot值约为12~29^[14]。本研究中,芦丁在茎红茶中的含量较高,而山柰酚-3-O-芸香糖苷在茎红茶中的含量较低,其茶汤评价为纯和,这表明茶汤是多个滋味物质共同作用结果。

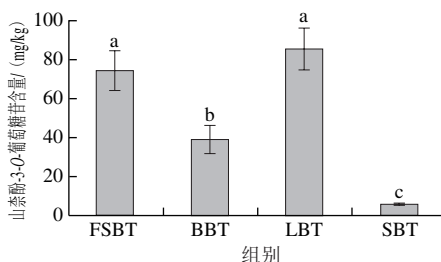
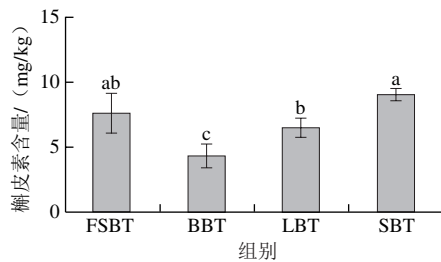
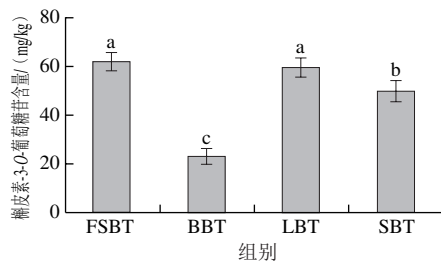
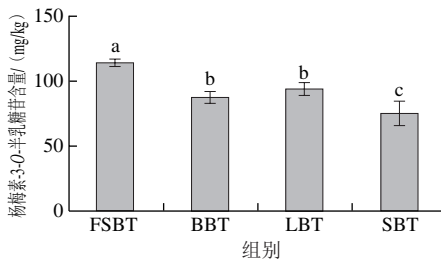
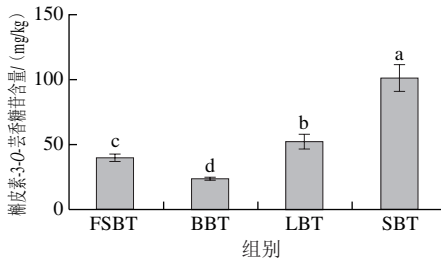




字母不同表示组间差异显著, $P < 0.05$ 。下同。

图2 主要品质成分含量分析

Fig. 2 Analysis of major quality compounds in black tea samples



2.3 挥发性化合物在4类红茶中的差异积累

通过顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用仪分析, 共鉴定出73种挥发性化合物。结果表明, 挥发性物质总量以单芽红茶最高(100.01 $\mu\text{g/g}$), 其次为叶片红茶(95.67 $\mu\text{g/g}$)、一芽二叶红茶(92.42 $\mu\text{g/g}$)、茎红茶(32.37 $\mu\text{g/g}$)。共有5种化合物在4类红茶中的含量无差异: 3-甲基丁醛、1-戊烯-3-醇、3-己烯-1-醇、1-辛烯-3-醇和咖啡碱, 其余68个化合物在4类红茶中的含量均存在显著差异(表2)。

表2 挥发性化合物鉴定及含量分析

Table 2 Identification and quantitative analysis of volatile compounds

编号	挥发性化合物	CAS号	RF ¹	RF ²	含量/ $\mu\text{g/kg}$			
					FSBT	BBT	LBT	SBT
C1	二甲基硫醚	75-18-3	565	589	15.71 \pm 0.53 ^b	19.81 \pm 4.02 ^b	15.93 \pm 4.7 ^b	36.86 \pm 13.76 ^c
C2	3-甲基丁醛	590-86-3	649	645	15.58 \pm 4.09 ^a	15.10 \pm 0.85 ^a	17.41 \pm 2.10 ^a	12.69 \pm 2.39 ^a
C3	2-甲基丁醛	96-17-3	659	652	44.63 \pm 6.00 ^b	60.69 \pm 2.14 ^a	54.54 \pm 5.34 ^b	43.87 \pm 8.28 ^b
C4	1-戊烯-3-醇	616-25-1	673	667	14.20 \pm 6.15 ^a	8.69 \pm 1.31 ^a	7.01 \pm 3.19 ^a	12.18 \pm 1.83 ^a
C5	(E)-2-甲基-2-丁烯醛	497-03-0	724	724	5.69 \pm 3.34 ^a	4.04 \pm 0.45 ^b	1.87 \pm 0.22 ^a	1.04 \pm 0.10 ^a
C6	(E)-2-戊烯醛	1576-87-0	743	738	4.83 \pm 1.44 ^b	2.48 \pm 0.23 ^a	6.69 \pm 0.88 ^a	1.69 \pm 0.14 ^a
C7	(Z)-2-戊烯-1-醇	1576-95-0	760	756	47.77 \pm 14.24 ^{ab}	33.62 \pm 1.55 ^b	42.71 \pm 1.40 ^b	56.82 \pm 7.19 ^c
C8	正己醛	66-25-1	794	794	149.86 \pm 64.40 ^{bc}	73.36 \pm 18.20 ^b	100.85 \pm 17.14 ^b	185.51 \pm 74.98 ^c
C9	(E)-2-己烯醛	6728-26-3	845	847	89.00 \pm 74.25 ^{bc}	152.35 \pm 56.40 ^b	379.84 \pm 19.01 ^a	14.72 \pm 6.42 ^a
C10	3-己烯-1-醇	928-97-2	851	850	128.06 \pm 86.34 ^a	86.31 \pm 10.15 ^a	84.94 \pm 9.15 ^a	59.87 \pm 4.67 ^a
C11	2-己烯-1-醇	928-95-0	862	861	20.28 \pm 0.80 ^b	24.18 \pm 1.22 ^a	28.56 \pm 1.01 ^a	9.05 \pm 0.81 ^d
C12	庚醛	111-71-7	901	900	16.37 \pm 2.16 ^{ab}	10.92 \pm 1.08 ^b	21.03 \pm 3.39 ^a	13.92 \pm 5.67 ^b
C13	苯甲醛*	100-52-7	959	958	564.30 \pm 4.62 ^{ab}	462.56 \pm 25.00 ^b	614.84 \pm 39.58 ^b	659.62 \pm 115.65 ^c
C14	1-庚醇	111-70-6	970	969	16.41 \pm 3.67 ^a	10.98 \pm 6.27 ^{ab}	15.41 \pm 0.48 ^b	8.42 \pm 2.41 ^b
C15	α -月桂烯	1686-30-2	981	976	7.64 \pm 1.33 ^{ab}	8.45 \pm 1.81 ^a	6.10 \pm 0.41 ^b	2.18 \pm 0.22 ^a
C16	1-辛烯-3-醇	3391-86-4	979	979	17.87 \pm 1.80 ^a	18.78 \pm 3.31 ^a	13.21 \pm 0.47 ^b	17.62 \pm 5.33 ^a
C17	6-甲基-5-庚烯-2-酮	110-93-0	982	983	25.30 \pm 2.09 ^a	24.67 \pm 2.14 ^a	22.28 \pm 1.16 ^a	15.66 \pm 2.41 ^b
C18	β -月桂烯*	123-35-3	991	990	987.31 \pm 21.15 ^a	1 128.84 \pm 26.57 ^a	941.15 \pm 25.55 ^b	362.14 \pm 52.05 ^c
C19	(Z)-2,6-二甲基-2,6-辛二烯	2492-22-0		998	23.95 \pm 0.77 ^a	13.51 \pm 0.97 ^b	11.94 \pm 2.54 ^b	6.31 \pm 0.55 ^b
C20	(E,E)-2,4-庚二烯醛	4313-03-5	1 008	1 008	19.35 \pm 0.21 ^a	10.80 \pm 1.61 ^b	17.62 \pm 1.71 ^a	7.79 \pm 0.64 ^a
C21	α -萜品烯	99-86-5	1 013	1 013	35.79 \pm 2.55 ^b	41.01 \pm 2.53 ^a	34.43 \pm 0.64 ^b	14.25 \pm 2.00 ^b
C22	对异丙基甲苯	99-87-6	1 020	1 020	31.16 \pm 1.95 ^b	35.40 \pm 1.92 ^a	31.44 \pm 1.46 ^b	13.17 \pm 0.92 ^b
C23	柠檬烯	5989-27-5	1 024	1 024	178.47 \pm 5.22 ^a	212.43 \pm 7.70 ^a	174.39 \pm 2.36 ^b	55.09 \pm 11.60 ^c
C24	苯甲醛*	100-51-6	1 031	1 030	38 600.64 \pm 1 078.34 ^d	41 103.73 \pm 746.21 ^d	42 020.84 \pm 398.42 ^d	4 308.98 \pm 251.17 ^e
C25	(E)- β -罗勒烯	3779-61-1	1 032	1 032	0	0	0	36.99 \pm 3.99 ^a
C26	苯乙醛*	122-78-1	1 039	1 039	7 294.16 \pm 243.70 ^b	7 743.79 \pm 52.05 ^b	7 137.26 \pm 1 087.73 ^b	9 413.72 \pm 1 089.65 ^c
C27	(Z)- β -罗勒烯	3338-55-4	1 043	1 043	340.85 \pm 5.17 ^a	414.06 \pm 10.36 ^a	316.13 \pm 5.24 ^a	68.50 \pm 14.71 ^a
C28	γ -萜品烯	99-85-4	1 053	1 053	23.17 \pm 0.83 ^a	23.37 \pm 0.73 ^a	22.92 \pm 1.28 ^a	6.73 \pm 1.44 ^a
C29	(Z)-呋喃型芳樟醇氧化物*	5989-33-3	1 066	1 068	1 468.08 \pm 86.31 ^b	1 346.74 \pm 117.70 ^b	1 556.69 \pm 101.08 ^b	2 223.06 \pm 292.49 ^c
C30	1-辛醇	111-87-5	1 070	1 070	25.80 \pm 1.85 ^{ab}	22.56 \pm 4.04 ^b	28.81 \pm 0.62 ^a	18.70 \pm 1.90 ^b

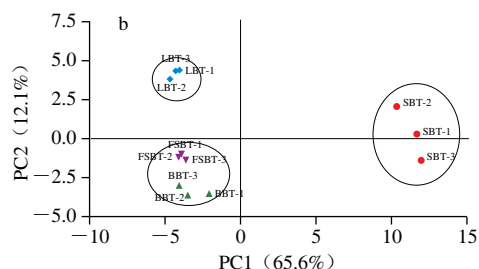
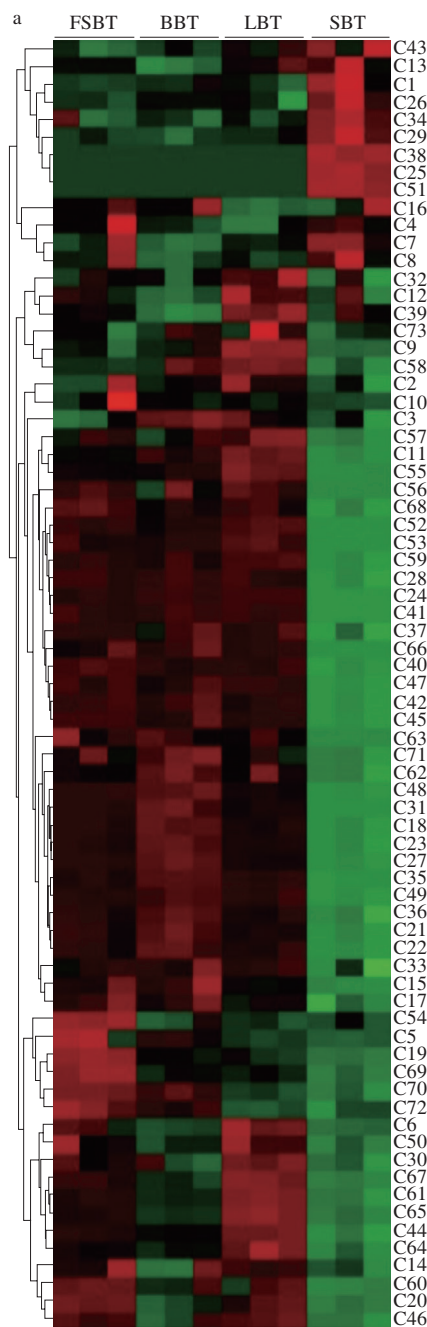
续表2

编号	挥发性化合物	CAS号	RI ^b	RF	含量/(μg/kg)			
					FSBT	BBT	LBT	SBT
C31	α-蒎烯	1124-27-2	1081	1082	23.33±0.52 ^a	29.08±2.78 ^a	20.98±0.66 ^a	0
C32	(E)-呋喃型芳樟醇氧化物*	34995-77-2	1087	1088	9310.51±425.71 ^b	9135.59±601.08 ^b	10347.96±630.88 ^b	8697.53±985.87 ^b
C33	芳樟醇*	78-70-6	1104	1103	938.36±58.76 ^a	1011.58±95.33 ^a	981.66±19.71 ^a	651.03±169.98 ^b
C34	壬醛*	124-19-6	1105	1105	132.31±33.70 ^b	124.61±13.43 ^b	131.96±9.63 ^b	182.47±17.21 ^a
C35	苯乙醇*	60-12-8	1114	1112	11035.22±318.46 ^c	13179.17±127.19 ^c	11450.61±182.79 ^c	1809.24±128.65 ^d
C36	别罗勒烯	7216-56-0	1131	1126	96.08±5.50 ^b	111.43±4.32 ^b	94.30±4.20 ^b	31.58±12.59 ^a
C37	(Z)-3-壬烯醇	10340-23-5	1152	1151	10.14±0.09 ^a	10.10±1.54 ^a	10.34±0.65 ^a	4.99±1.35 ^b
C38	丁香醛	53447-48-6	1159	1160	0	0	0	1.84±0.13 ^a
C39	(E)-呋喃型芳樟醇氧化物	39028-58-5	1168	1167	66.58±1.67 ^b	53.62±1.91 ^a	78.75±3.03 ^a	66.51±7.03 ^b
C40	(Z)-呋喃型芳樟醇氧化物	14009-71-3	1175	1175	291.94±7.55 ^a	268.96±8.46 ^a	274.10±10.08 ^a	110.90±9.82 ^a
C41	异柠檬醛	55722-59-3	1183	1180	13.14±0.98 ^a	13.60±0.77 ^a	13.58±0.47 ^a	0
C42	水杨酸甲酯*	119-36-8	1191	1191	4643.06±164.91 ^a	4740.18±455.10 ^a	4310.29±200.70 ^a	867.50±246.41 ^a
C43	癸醛	112-31-2	1206	1205	6.68±1.03 ^b	7.74±0.85 ^b	9.03±0.97 ^b	11.17±2.95 ^a
C44	β-环柠檬醛*	432-25-7	1214	1214	24.09±0.52 ^b	21.12±0.27 ^a	28.93±0.64 ^a	10.99±2.46 ^d
C45	橙花醇	106-25-2	1222	1223	115.91±0.96 ^a	113.97±15.25 ^a	107.71±1.82 ^a	17.04±3.96 ^b
C46	(Z)-3-己烯醇 2-甲基丁酸酯	53398-85-9	1233	1229	13.67±0.44 ^a	10.53±2.64 ^a	14.24±0.45 ^a	7.68±0.76 ^a
C47	橙花醛	106-26-3	1235	1235	88.37±5.84 ^a	84.67±11.30 ^a	86.68±2.71 ^a	11.04±3.15 ^b
C48	香叶醇*	106-24-1	1263	1263	13769.93±160.14 ^b	16310.32±716.17 ^b	12223.47±246.67 ^b	1937.14±384.84 ^d
C49	α-柠檬醛	141-27-5	1269	1269	204.45±2.62 ^a	230.55±8.78 ^a	211.99±11.08 ^a	36.58±7.02 ^a
C50	壬酸	112-05-0	1275	1275	41.74±11.97 ^{ab}	27.78±3.93 ^{bc}	46.34±7.61 ^a	18.71±4.43 ^a
C51	吲哚*	120-72-9	1283	1283	0	0	0	54.99±4.72 ^a
C52	甲酸香叶酯	105-86-2	1298	1297	12.34±0.34 ^b	10.94±0.97 ^a	13.82±0.58 ^a	0
C53	反式-依杜兰	41678-29-9	1309	1306	4.81±0.62 ^{ab}	4.68±0.22 ^b	5.53±0.39 ^a	0
C54	香叶酸甲酯	1189-09-9	1319	1319	21.17±0.63 ^a	11.00±3.63 ^b	10.57±1.16 ^b	10.63±2.18 ^b
C55	香叶酸	459-80-3	1355	1353	293.08±7.07 ^b	316.16±22.45 ^b	438.84±34.33 ^a	24.17±5.28 ^b
C56	乙酸香叶酯	105-87-3	1376	1376	7.12±0.68 ^a	5.49±3.17 ^a	7.39±0.81 ^a	0
C57	己酸叶醇酯*	56922-82-8	1379	1378	28.76±4.45 ^{ab}	25.70±6.57 ^b	36.29±4.28 ^a	13.00±2.44 ^a
C58	茉莉醇*	488-10-8	1385	1386	79.42±2.48 ^b	98.85±16.41 ^a	113.48±1.83 ^a	65.09±9.48 ^b
C59	α-柏木烯	469-61-4	1408	1407	7.46±0.13 ^{ab}	7.37±0.37 ^a	7.87±0.10 ^a	4.13±0.28 ^a
C60	β-柏木烯	546-28-1	1418	1416	7.07±0.12 ^a	4.69±1.60 ^a	5.48±1.95 ^a	1.37±0.19 ^b
C61	α-紫罗兰酮*	127-41-3	1418	1419	13.82±0.45 ^b	10.01±0.40 ^a	18.42±0.42 ^a	4.69±1.67 ^d
C62	香豆素	91-64-5	1424	1424	2.28±0.05 ^b	2.85±0.16 ^a	2.51±0.45 ^{ab}	1.20±0.23 ^a
C63	二氢-β-紫罗兰酮	3293-47-8	1449	1441	2.01±0.63 ^a	1.84±0.36 ^a	1.62±0.35 ^a	0
C64	香叶基丙酮	3796-70-1	1449	1449	5.73±0.15 ^b	4.99±0.30 ^b	7.92±0.83 ^a	2.98±0.78 ^a
C65	β-紫罗兰酮*	79-77-6	1475	1476	21.98±0.37 ^b	14.67±0.44 ^a	31.10±1.48 ^a	7.82±2.04 ^d
C66	5-甲基-2-苯基-2-己烯酸	21834-92-4	1482	1480	23.57±5.30 ^a	25.70±3.70 ^a	23.31±0.88 ^a	0
C67	二氢猕猴桃内酯	17092-92-1	1513	1514	8.46±0.36 ^b	5.81±0.49 ^a	10.44±0.46 ^a	3.49±0.37 ^d
C68	橙花叔醇*	142-50-7	1560	1560	32.51±1.41 ^a	27.39±1.98 ^b	29.84±2.26 ^b	11.73±2.40 ^a
C69	(Z)-3-己烯醇苯甲酸酯	25152-85-6	1568	1567	13.91±0.80 ^a	8.05±0.89 ^b	7.68±0.69 ^b	4.23±0.90 ^a
C70	雪松醇*	77-53-2	1596	1597	18.46±0.23 ^a	17.05±0.66 ^b	13.18±0.45 ^a	11.20±1.08 ^d
C71	茉莉酮酸甲酯*	1211-29-6	1638	1637	702.30±117.61 ^{ab}	818.32±64.68 ^a	636.34±70.85 ^b	361.26±50.44 ^a
C72	苯甲酸苄酯	120-51-4	1758	1759	16.94±1.01 ^a	15.02±0.46 ^b	12.21±0.31 ^a	11.78±1.29 ^a
C73	咖啡碱	58-08-2	1830	1826	29.51±7.40 ^a	35.66±6.18 ^a	42.04±14.82 ^a	28.16±4.39 ^a

注：*。该化合物通过标准品进行定性定量，未标注表明该化合物通过RI定性并通过内标癸酸乙酯进行定量计算；CAS号来源于NIST数据库 (<https://webbook.nist.gov/chemistry/>)；RI^b来源于NIST数据库，以非极性柱DB-5MS为基准。RI^c通过正构烷烃出峰时间计算得到。同行不同字母表示差异显著，P<0.05。

挥发性化合物聚类分析显示，癸醛、苯甲醛、二甲基硫醚、苯乙醛、壬醛、(Z)-呋喃型芳樟醇氧化物、丁香醛、(E)-β-罗勒烯及吲哚聚在一个亚分枝上，且这些化合物主要在荃红茶中含量较高（图3a）。Kang Suyong等^[19]的研究显示，苯乙醛是荃红茶区别于锡兰红茶、阿萨姆红茶及大吉岭红茶的重要香气物质，其在荃红茶中的香气活性值较高，对红茶甜香、花香贡献较大。吲哚

是乌龙茶中重要的呈香化合物，具有花香特征^[20]。苯乙醛和吲哚在荃红茶中含量较高，这表明荃对荃门红茶的香气形成具有重要影响。



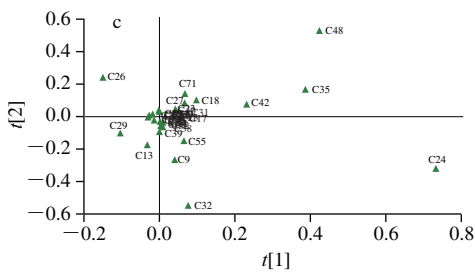


图3 挥发性成分的聚类分析 (a)、PCA (b) 及偏最小二乘判别分析 (c)
Fig. 3 Clustering heatmap (a), PCA (b) and partial least squares-discriminant analysis (c) plot of volatile compounds

1-辛烯-3-醇、1-戊烯-3-醇、(Z)-2-戊烯-1-醇及正己醛聚在一个小亚分枝上, 在4类红茶中的差异不明显, 其余化合物聚在一个大亚分枝上, 这些化合物在一芽二叶、单芽、叶片红茶中含量较低, 在茎红茶中富集。此外, 香叶酸甲酯、(E)-2-甲基-2-丁烯醛、(Z)-2,6-二甲基-2,6-辛二烯、(Z)-3-己烯醇、苯甲酸酯、雪松醇及苯甲酸苄酯聚在一起, 该类物质在叶片红茶、茎红茶中含量较低, 在一芽二叶、单芽红茶中的含量较高。(E)-2-戊烯醛、壬酸、1-辛醇、二氢猕猴桃内酯、 α -紫罗兰酮、 β -紫罗兰酮、 β -环柠檬醛及香叶基丙酮在叶片红茶中的含量明显高于单芽红茶。 β -紫罗兰酮是类胡萝卜素裂解产物^[21-22], 具有强烈的蜜香、花香, 香气阈值低(约0.007 $\mu\text{g/L}$), 对红茶的甜香特征影响较大^[23]。此外, 二氢猕猴桃内酯和 α -紫罗兰酮均是类胡萝卜素裂解产物^[24], 这表明叶片中富含的类胡萝卜素在红茶萎凋、发酵进程中裂解并释放出花香类物质, 对红茶香气品质产生影响。

PCA表明, 茎红茶显著有别于其他3类红茶, 叶片红茶与单芽、一芽二叶红茶差异相对较小(图3b); 偏最小二乘判别分析显示, 12种挥发性化合物对模型的变量投影重要性值 >1 , 包括(E)-呋喃型芳樟醇氧化物、苯甲醇、香叶醇、苯乙醛、(Z)-呋喃型芳樟醇氧化物、苯甲醛、(E)-2-己烯醛、水杨酸甲酯、苯乙醇、正己醛、3-己烯-1-醇、香叶酸(图3c)。Zeng Lanting等^[25]的研究显示, 茶树叶片面积与芳樟醇含量呈显著正相关, 即叶片面积越大, 吸收的光越多, 抑制芳樟醇转化成芳樟醇氧化物, 使得叶片中积累较多的芳樟醇。本研究中, (Z)-呋喃型芳樟醇氧化物在茎红茶中含量丰富, 而(E)-呋喃型芳樟醇氧化物则在叶红茶中含量较高。

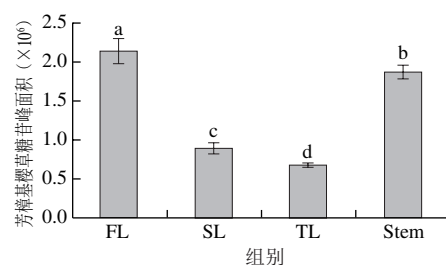
2.4 糖苷类香气前体及茶氨酸、吲哚代谢关键酶基因表达分析

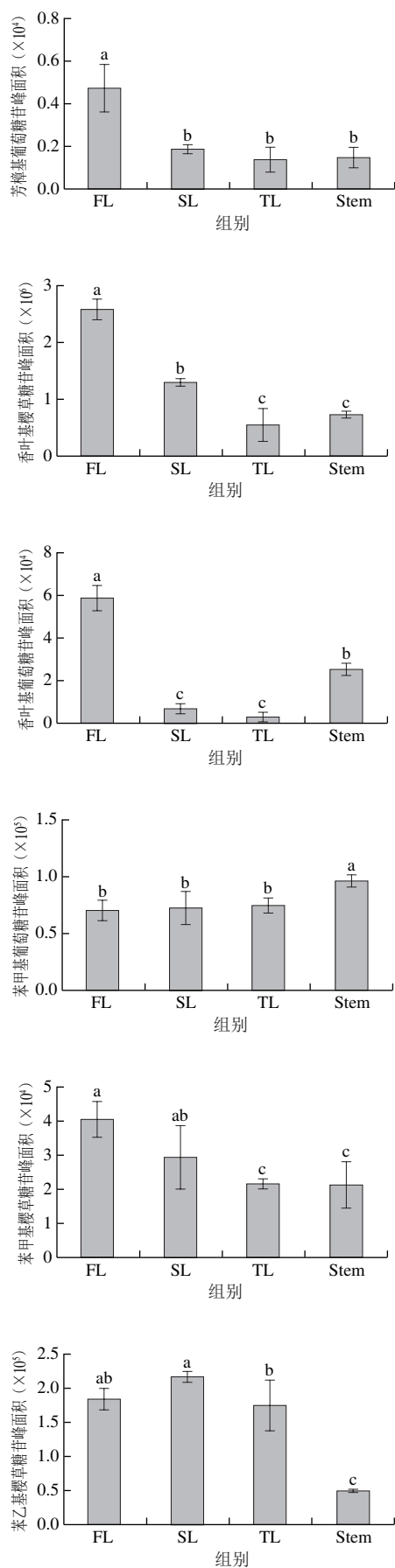
糖苷类挥发性化合物如香叶醇、芳樟醇、苯甲醇、苯乙醇等, 在茎红茶与其他红茶中的差异较为显著。已有报道表明该类物质主要以糖苷结合态存在于细胞内, 在红茶加工中被糖苷水解酶催化, 并释放出游离态^[26]。如图4所示, 芳樟基樱草糖苷在幼嫩叶片中丰度较高, 其次为嫩茎, 叶片成熟度越高其丰度越低; 芳樟基葡萄糖

苷在幼嫩叶片中丰度最高, 在其他部位的差异不显著。香叶基樱草糖苷及葡萄糖苷均在第一叶中丰度最高。苯甲基葡萄糖苷在茎中的积累丰度显著高于叶片, 而其樱草糖苷在嫩叶中的积累相对较多。苯乙基樱草糖苷在叶片中的积累显著高于嫩茎。Wang Dongmei等^[27]研究显示红茶加工过程中葡萄糖苷类香气前体变化相对较小(约降低30%), 而樱草糖苷类香气前体在发酵叶中只占鲜叶中的4%, 即几乎96%樱草糖苷类香气前体被水解并释放出苷元物质。此外, Cui Jilai等^[26]的研究表明, 芳香族糖苷香气前体葡萄糖苷态(约占45%)与樱草糖苷态含量(约占55%)占比相对一致, 而单萜类糖苷香气前体几乎以樱草糖苷态为主体(约占98.3%)。本研究中芳樟醇在芽头红茶中的相对含量最高, 与其糖苷类香气前体在幼嫩部分积累较多有关。香叶醇在茎红茶中的相对含量显著低于其他红茶, 结果显示其葡萄糖苷态虽在茎中积累较多, 但其樱草糖苷态在茎中的积累显著低于第一叶和第二叶。

*CsPDX2.1*是茶树茶氨酸分解代谢途径中的关键酶基因^[28], 其能够催化茶氨酸生成谷氨酸和乙胺, 结果显示其相对表达量在茎中极低, 在叶片中的基因表达水平相对较高。茶氨酸主要在茶树根部合成, 再由转运蛋白输送到地上部分^[29-31]。本研究中茎红茶含丰富的茶氨酸, 推测嫩茎中积累较多的茶氨酸有两个重要原因: 一是茶氨酸通过木质部运输^[31], 使得茶氨酸在茎中保留较多; 二是叶片部位的茶氨酸受*CsPDX2.1*调控, 即叶片中的茶氨酸分解代谢较为旺盛。

*CsTSA*和*CsTSB2*是茶树中负责吲哚生物合成的关键酶基因, 二者共同催化吲哚-3-甘油磷酸生成吲哚^[32-33]。定量结果显示二者均在叶片中的表达较高, 在茎中的表达相对较低, 且*CsTSA*相对表达量在叶片和嫩茎中达到显著差异。Zeng Lanting等^[4]在乌龙茶的研究中显示, 在日光萎凋阶段, 茎中吲哚含量显著高于叶片, 但在摇青阶段叶片中的吲哚含量显著上升, 而茎中的含量变化则不明显, 这是由于摇青阶段造成的机械损伤使得*CsTSB2*上调表达, 促进吲哚的生物合成^[32,34]。祁门红茶加工过程中, 萎凋、揉捻结束后进入发酵阶段, 该阶段可能会促进吲哚发生氧化反应^[32]。本研究中茎红茶中吲哚含量较高, 推测是吲哚在茎中初始值较高, 即使发生氧化反应, 也保留一定相对含量。





FL.第一叶; SL.第二叶; TL.第三叶; Stem.茎。

图4 茎和叶片中糖苷类香气前体及茶氨酸、吲哚代谢途径关键酶基因表达分析

Fig. 4 Abundance of glycoside aroma precursors and expression analysis of key enzyme genes involved in theanine and indole metabolic pathways in tea leaves and stems

3 结论

本研究基于同一品种鲜叶, 将其芽头、嫩叶、嫩茎及完整芽叶(一芽二叶)按照祁门红茶加工标准, 分别制成红茶样。结果表明, 4类红茶风味存在差异, 一芽二叶红茶甜香高, 滋味醇厚, 喜好度评价得分与单芽红茶无明显差异。芽头红茶滋味醇厚鲜爽, 感官审评评价较高, 但其喜好度评价得分略低于茎红茶, 且相比于茎红茶, 其内含丰富的挥发性物质、儿茶素类化合物、咖啡碱, 含有较低含量的游离氨基酸。嫩叶红茶具有甜香特征, 但滋味爽口度差, 与其内含丰富的黄酮苷类物质、较低含量的游离氨基酸相关。此外, 叶片红茶中含丰富的类胡萝卜素代谢相关化合物, 如β-紫罗酮和二轻猕猴桃内酯。嫩茎红茶喜好度评价得分最高, 其内含丰富的游离氨基酸, 但挥发性物质总量显著低于其他3类红茶, 吲哚、苯乙醛等甜香、花香型化合物在茎红茶中含量较高。茶色素类物质的结果表明, 一芽二叶红茶汤中的TRs/TFs值约为11.6, 该比值有益于红茶汤的滋味品质。综上所述, 茶树新梢不同部位的次级代谢调控存在差异, 使得茶叶品质成分在各部位积累不同, 影响红茶风味的形成。

参考文献:

- [1] 刘亚芹, 王辉, 周汉琛, 等. 冲泡模式对祁门红茶主要生化成分及抗氧化能力的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(7): 2552-2560. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2021.07.008.
- [2] OWUOR P O, OBANDA M. The changes in black tea quality due to variations of plucking standard and fermentation time[J]. Food Chemistry, 1998, 61(4): 435-441. DOI:10.1016/S0308-8146(97)00092-7.
- [3] WU Y H, JIANG X L, ZHANG S X, et al. Quantification of flavonol glycosides in *Camellia sinensis* by MRM mode of UPLC-QQQ-MS/MS[J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1017/1018: 10-17. DOI:10.1016/j.jchromb.2016.01.064.
- [4] ZENG L T, ZHOU Y, FU X M, et al. Does oolong tea (*Camellia sinensis*) made from a combination of leaf and stem smell more aromatic than leaf-only tea? Contribution of the stem to oolong tea aroma[J]. Food Chemistry, 2017, 237: 488-498. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.05.137.
- [5] WANG Q, WU Y, PENG A Q, et al. Single-cell transcriptome atlas reveals developmental trajectories and a novel metabolic pathway of catechin esters in tea leaves[J]. Plant Biotechnology Journal, 2022, 20(11): 2089-2106. DOI:10.1111/pbi.13891.
- [6] YAO S B, LIU Y J, ZHUANG J H, et al. Insights into acylation mechanisms: co-expression of serine carboxypeptidase-like acyltransferases and their non-catalytic companion paralogs[J]. The Plant Journal, 2022, 111(1): 117-133. DOI:10.1111/tpj.15782.
- [7] DAI X L, LIU Y J, ZHUANG J H, et al. Discovery and characterization of tannase genes in plants: roles in hydrolysis of tannins[J]. New Phytologist, 2020, 226(4): 1104-1116. DOI:10.1111/nph.16425.
- [8] 唐明熙, 汪春园, 江济和, 等. 鬼早2号选育研究[J]. 茶叶, 1995(4): 18-22.
- [9] 周汉琛, 刘亚芹, 王辉, 等. 太平猴魁茶栽培品种‘柿大茶’品系间代谢物及遗传进化分析[J]. 食品科学, 2023, 44(14): 229-236. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220909-087.
- [10] 张正竹. 茶叶生物化学实验教程[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 52-54.
- [11] ZHUANG J H, DAI X L, ZHU M Q, et al. Evaluation of astringent taste of green tea through mass spectrometry-based targeted metabolic profiling of polyphenols[J]. Food Chemistry, 2020, 305: 125507. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.125507.
- [12] ZHOU H C, WANG S J, XIE H F, et al. Cytosolic nudix hydrolase 1 is involved in geranyl β -primeveroside production in tea[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 833682. DOI:10.3389/fpls.2022.833682.
- [13] 周汉琛, 杨霁虹, 徐玉婕, 等. 香叶醇生物合成相关基因*NUDX1*的进化分析[J]. 茶叶科学, 2022, 42(5): 638-648. DOI:10.13305/j.cnki.jts.2022.05.001.
- [14] WEN M C, HAN Z S, CUI Y Q, et al. Identification of 4-*O*-p-coumaroylquinic acid as astringent compound of Keemun black tea by efficient integrated approaches of mass spectrometry, turbidity analysis and sensory evaluation[J]. Food Chemistry, 2022, 368: 130803. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.130803.
- [15] ZHANG L T, CAO Q Q, GRANATO D, et al. Association between chemistry and taste of tea: a review[J]. Trends in Food Science and Technology, 2020, 101: 139-149. DOI:10.1016/j.tifs.2020.05.015.
- [16] NGURE F M, WANYOKO J K, MAHUNGU S M, et al. Catechins depletion patterns in relation to theaflavin and thearubigins formation[J]. Food Chemistry, 2009, 115(1): 8-14. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.10.006.
- [17] 李建芳, 尹鹏, 张江萍. 浸提条件对红茶色素(TR/TF)浸出率的影响及红茶汤浸提工艺优化研究[J]. 食品科技, 2012, 37(6): 101-104; 108. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2012.06.040.
- [18] 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.
- [19] KANG S Y, YAN H, ZHU Y, et al. Identification and quantification of key odorants in the world's four most famous black teas[J]. Food Research International, 2019, 121: 73-83. DOI:10.1016/j.foodres.2019.03.009.
- [20] ZENG L T, ZHOU Y, GUI J D, et al. Formation of volatile tea constituent indole during the oolong tea manufacturing process[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2016, 64(24): 5011-5019. DOI:10.1021/acs.jafc.6b01742.
- [21] WANG J M, ZHANG N, ZHAO M Y, et al. Carotenoid cleavage dioxygenase 4 catalyzes the formation of carotenoid-derived volatile β -ionone during tea (*Camellia sinensis*) withering[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(6): 1684-1690. DOI:10.1021/acs.jafc.9b07578.
- [22] WANG J M, ZHAO M Y, GAO T, et al. Promoter and coding sequence diversity of CsCCD1 may contribute to the differential accumulation of floral β -ionone in fresh tea (*Camellia sinensis*) leaves[J]. Horticultural Plant Journal, 2023, 9(4): 837-847. DOI:10.1016/j.hpj.2022.08.001.
- [23] YU J Y, LIU Y, ZHANG S R, et al. Effect of brewing conditions on phytochemicals and sensory profiles of black tea infusions: a primary study on the effects of geraniol and β -ionone on taste perception of black tea infusions[J]. Food Chemistry, 2021, 354: 129504. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129504.
- [24] FENG Z H, LI Y F, LI M, et al. Tea aroma formation from six model manufacturing processes[J]. Food Chemistry, 2019, 285: 347-354. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.01.174.
- [25] ZENG L T, XIAO Y Y, ZHOU X C, et al. Uncovering reasons for differential accumulation of linalool in tea cultivars with different leaf area[J]. Food Chemistry, 2021, 345: 128752. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128752.
- [26] CUI J L, KATSUNO T, TOTSUKA K, et al. Characteristic fluctuations in glycosidically bound volatiles during tea processing and identification of their unstable derivatives[J]. Journal of Agriculture Food Chemistry, 2016, 64(5): 1151-1157. DOI:10.1021/acs.jafc.5b05072.
- [27] WANG D M, KURASAWA E, YAMAGUCHI Y, et al. Analysis of glycosidically bound aroma precursors in tea leaves. 2. Changes in glycoside contents and glycosidase activities in tea leaves during the black tea manufacturing process[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2001, 49(4): 1900-1903. DOI:10.1021/jf001077+.
- [28] FU X M, CHENG S H, LIAO Y Y, et al. Characterization of l-theanine hydrolase *in vitro* and subcellular distribution of its specific product ethylamine in tea (*Camellia sinensis*)[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2020, 68(39): 10842-10851. DOI:10.1021/acs.jafc.0c01796.
- [29] DENG W W, OGITA S, ASHIHARA H. Biosynthesis of theanine (γ -ethylamino-l-glutamic acid) in seedlings of *Camellia sinensis*[J]. Phytochemistry Letters, 2008, 1(2): 115-119. DOI:10.1016/j.phytol.2008.06.002.
- [30] DENG W W, ASHIHARA H. Occurrence and de novo biosynthesis of caffeine and theanine in seedlings of tea (*Camellia sinensis*)[J]. Natural Product Communications, 2015, 10(5): 703-706. DOI:10.1177/1934578X1501000502.
- [31] DONG C X, LI F, YANG T Y, et al. Theanine transporters identified in tea plants (*Camellia sinensis* L.)[J]. The Plant Journal, 2020, 101(1): 57-70. DOI:10.1111/tpj.14517.
- [32] ZENG L T, ZHOU Y, GUI J D, et al. Formation of volatile tea constituent indole during the oolong tea manufacturing process[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2016, 64(24): 5011-5019. DOI:10.1021/acs.jafc.6b01742.
- [33] ZHOU Y, ZENG L T, HOU X L, et al. Low temperature synergistically promotes wounding-induced indole accumulation by INDUCER OF CBF EXPRESSION-mediated alterations of jasmonic acid signaling in *Camellia sinensis*[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(6): 2172-2185. DOI:10.1093/jxb/erz570.
- [34] YANG J, ZHOU X C, WU S H, et al. Involvement of DNA methylation in regulating the accumulation of the aroma compound indole in tea (*Camellia sinensis*) leaves during postharvest processing[J]. Food Research International, 2021, 142: 110183. DOI:10.1016/j.foodres.2021.110183.