

基于非靶向代谢组学分析茯砖茶发花过程 代谢产物变化

段洁¹, 孙敏², 付玉婷², 边文文¹, 刘静¹, 赵燕妮², 张亚锋³, 李卓³, 余郑绿⁴, 谷文军⁴, 曾桥^{2*}

(1. 陕西省产品质量监督检验研究院, 陕西西安 710048)

(2. 陕西农产品加工技术研究院, 陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西西安 710021)

(3. 西安市食品药品检验所, 陕西西安 710054) (4. 陕西朴道茶业股份有限公司, 陕西西安 713700)

摘要: 为了解茯砖茶“发花”过程中代谢物特征及变化, 采用超高效液相色谱-质谱联用方法对发花0 d、7 d和14 d三个时间点代谢物丰度进行测定, 将代谢物数据进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)。结果表明: 茯砖茶发花不同时期样本存在较大代谢差异, 共检测到1 316个物质信号峰, 其中发花0 d和7 d、7 d和14 d以及0 d和14 d之间筛选出的代谢差异物分别为260、229和506个, 这些物质属于生物碱、氨基酸及其衍生物、黄酮类、茶多酚及儿茶素、有机酸及其衍生物等。进一步对影响茯砖茶品质和功能的主要代谢物质进行分析发现, 发花改变了茯砖茶中茶多酚及儿茶素、黄酮和氨基酸等主要代谢物的组成, 降低了茯砖茶的苦涩味, 促进了醇和口感和红浓汤色的形成, 且肉毒碱、异喹啉、相思子碱、长春质碱等生物碱在发花过程中的上调有助于提升茯砖茶降脂、降压和抗炎等功效。发花是改变茯砖茶代谢谱的关键过程, 对于形成茯砖茶独特的品质和保健功能具有重要作用, 这为揭示茯砖茶风味和保健功能的形成机制提供了依据。

关键词: 茯砖茶; 发花过程; 非靶向代谢组学; 代谢产物; 超高效液相色谱-质谱联用

文章编号: 1673-9078(2022)12-212-222

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.12.0096

Non-targeted Metabolomics-based Analysis of the Changes in Metabolic Products of Fu Brick Tea during Flowering

DUAN Jie¹, SUN Min², FU Yuting², BIAN Wenwen¹, LIU Jing¹, ZHAO Yanni², ZHANG Yafeng³, LI Zhuo³, YU Zhenglyu⁴, GU Wenjun⁴, ZENG Qiao^{2*}

(1. Shanxi Product Quality Supervision and Inspection Institute, Xi'an 710048, China)

(2. Shanxi Research Institute of Agricultural Products Processing Technology, School of Food and Biological Engineering, Shanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China) (3. Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710054, China) (4. Shaanxi Pu Dao Tea Limited by Share Ltd., Xi'an 713700, China)

Abstract: In order to understand the characteristics and changes of metabolites in the "flowering" process of Fu brick tea, the ultra-high phase liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS) combined method was used to determine the abundance of the metabolites at Day 0 d, 7 and 14. Principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) of the metabolite data were performed. The results showed that there were large metabolic differences in samples of Fu brick tea at different flowering stages, and a total of 1 316 signal peaks were detected. Among which, 260, 229 and 506 differential metabolites were screened out between Day 0 and Day 7,

引文格式:

段洁, 孙敏, 付玉婷, 等. 基于非靶向代谢组学分析茯砖茶发花过程代谢产物变化[J]. 现代食品科技, 2022, 38(12): 212-222

DUAN Jie, SUN Min, FU Yuting, et al. Non-targeted metabolomics-based analysis of the changes in metabolic products of fu brick tea during flowering [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(12): 212-222

收稿日期: 2022-01-26

基金项目: 陕西省创新能力支撑计划项目(2021PT-044); 陕西省重点研发计划一般项目(2021NY-133; 2023-YBNY-149); 西安市科技计划项目(21NYYF0060); 宁夏中宁枸杞产业专项基金项目(ZNGQCX-B-202001); 陕西省质监局系统科技计划项目(2018)

作者简介: 段洁(1978-), 女, 高级工程师, 研究方向: 食品检测与管理, E-mail: 3904699@qq.com

通讯作者: 曾桥(1982-), 男, 博士生, 高级实验师, 研究方向: 茯茶化学组成与功能, E-mail: zengqiao@sust.edu.cn

between Day 7 and Day 14, and between Day 0 and Day 14, respectively. These substances belong to classes such as alkaloids, amino acids and their derivatives, flavonoids, tea polyphenols and catechins, organic acids and their derivatives. Further investigations on the main metabolites affecting the quality and function of Fu brick tea revealed that flowering changed the composition of main metabolites such as polyphenols, catechins, flavonoids and amino acids of Fu brick tea, reduced the bitterness and astringent sensation of Fu brick tea, and promoted the formation of mellow taste and red soup color. The up-regulation of carnitine, isoquinoline, abrine, catharanthine and other alkaloids in the process of flowering enhanced the lipid-lowering, blood pressure-lowering and anti-inflammatory effects of Fu brick tea. The flowering process is the critical process for changing the metabolic profile of Fu brick tea, and plays an important role in forming the unique quality and health-care functions of Fu brick tea, which provides a basis for revealing the formation mechanism of the flavor and health-care functions of Fu brick tea.

Key words: Fu brick tea; flowering process; non-target metabolomics; metabolites; UPLC-MS

茯砖茶为后发酵茶,属于紧压黑茶的一种,是所有茶中加工工艺最为复杂和独特的产品^[1],具有降脂减肥、降血糖、抗肿瘤、提高免疫和抑菌等功效^[2-5],自古以来是我国西北各民族的生活必需品,被誉为“丝绸之路上的黑黄金”。近年来,随着人们生活水平的提高和保健意识的增强,以茯砖茶为代表的具有较好保健功能的发酵茶受到了消费者的青睐。茯砖茶常以黑毛茶为原料,经筛选、渥堆、气蒸、压制成型、发花干燥和陈化等工序加工制作而成,“发花”又被称为“品质风味”工序^[6],是茯砖茶加工过程中最为关键的步骤,其实质是在适宜的温度、湿度下,以冠突散囊菌为主的多菌群协同作用的固态发酵过程^[7],微生物的发酵作用不仅赋予了茯砖茶金花普茂、菌香浓郁的特征,而且使得其内含活性成分如多糖、黄酮、多酚及儿茶素类、生物碱、氨基酸、咖啡碱、茶色素等^[8]发生了明显的协调变化,这促进了茯砖茶开汤后汤色红浓、香气纯正和口感甘厚醇等优良品质的形成^[9],因此,对茯砖茶发花过程中活性成分变化进行研究对于阐明茯砖茶品质形成机制具有重要作用。然而,目前对于茯砖茶活性成分的研究主要是基于靶向测定茯砖茶加工过程中活性成分的含量,而对于整体代谢物特征的研究较少,具有较大的局限性。

代谢组学是一种新兴的对生物体内小分子和代谢网络的动态调控进行全局性分析的研究手段,广泛应用于食品营养学、毒理学、疾病诊断、药效评价、动植物代谢和响应机制等各领域^[10-12]。目前,代谢组学在茶叶种植、加工工艺、质量评价和溯源鉴别等各方面均得到了广泛应用,如李鑫磊等^[13]基于非靶向代谢组学比较分析了同一茶树原料按不同加工工艺制成的白茶、绿茶、乌龙茶和红茶的代谢产物特征,Ku等^[14]采用代谢组学研究了不同年份普洱茶代谢产物特征,为普洱茶年份鉴定提供了新方法,Wang等^[15]采用代谢组学可区分生普和熟普。因此,通过代谢组学技术全面了解茶叶内含活性成分的变化对于揭示茶叶品质特征的形成和变化规律,阐明茶叶品质形成机理具有重要

理论意义。基于此,本研究以 LC-MS 为研究手段,对茯砖茶发花过程中内含活性成分的变化进行研究,挖掘茯砖茶发花过程中代谢物变化特征,探索茯砖茶独特风味物质和保健作用形成机理,以期为茯砖茶加工技术改良,滋味品质、功效提升和功能性成分富集提供依据和参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

茯砖茶:以同一批次黑毛茶(一级,湖南安化)为原料,在陕西泾阳陕西朴道茶业股份有限公司经筛选、拌种渥堆、气蒸、手筑成型、发花干燥、陈化等工艺制成。整个发花过程为 14 d,分别于发花的第 0 d、7 d、14 d 取样,依次记为 FT0、FT7 和 FT14,所有样本取样后先对茶砖外形进行评审,然后迅速破碎混匀,立即进行冷冻干燥处理(真空度:0.01 kPa;温度为 -50 °C),均匀的分两份,一份储存于 -80 °C 下待进行液质分析,另一份密封储藏于 4 °C,用于感官内质评审和冠突散囊菌数量检测。

甲醇、甲酸、醋酸铵(质谱级),美国 Thermo Fisher 公司;水(质谱级),德国 Merck 公司。

1.2 仪器与设备

Vanquish UHPLC 液相色谱、Q-Exactive™ HF-X 质谱仪, Thermo Fisher (德国)公司; D3024 R 低温离心机, Scilogex (美国)公司; FD5-2.5 真空冷冻干燥机, SIM (美国)公司; Hypesil Gold column (100×2.1 mm, 1.9 μm) 色谱柱, Thermo Fisher (美国)公司。

1.3 方法

1.3.1 茶叶感官评审及发花过程中冠突散囊菌数量测定

茯砖茶发花过程中所取得茶样按 GB/T 23776-2018《茶叶感官审评方法》的规定进行感官评审,同时计

算各不同样本审评得分,其中各审评因子权重分别为:外形占25%,汤色占10%,香气占25%,滋味占30%,叶底占10%^[16]。冠突散囊菌的数量按GB 4789.15-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》的规定检测。

1.3.2 样本处理

取适量冻干后贮存于-80℃下茯砖茶样本进行液氮研磨,精密称取100 mg研磨后的样本,置于EP管中,加入80%甲醇溶液500 μL,漩涡振荡至样本与沉淀剂混匀,冰浴静置5 min后,离心20 min (13 000×g, 4℃),进一步取适量上清液置于EP管中,加入一定体积的水稀释上清液至甲醇含量为53%后,离心20 min (13 000×g, 4℃),收集上清,进行LC-MS/MS分析。同时从每个样本中取适量等体积样本混匀作为质控(QC)样本。

1.3.3 色谱条件

色谱柱: Hypesil Gold column C18; 流动相正离子模式: A为0.1% (V/V) 甲酸, B为甲醇; 流动相负离子模式: A为5 mmol/L 醋酸铵 (pH值9.0), B为甲醇; 洗脱梯度: 0~12 min, 98% A; 12~14 min, 100% B; 14~17 min, 98% A; 流量0.2 mL/min; 柱温40℃; 进样量2 μL。

1.3.4 质谱条件

电离方式: 电喷雾离子源; 质量扫描范围: 70~1 050

m/z ; 离子喷雾电压: 3.2 kV; 鞘气流速: 40 arb; 辅助气流速: 10 arb; 离子传输管温度: 320℃; 电离模式: 分别采用正、负离子模式采集数据; MS/MS二级扫描为: data-dependent scans。

1.4 数据分析

所有样本均设置3个重复,将下机数据导入compound discover 3.1搜库软件中,进行谱图处理和数据库搜库,得到代谢物的定性和定量结果,然后对数据进行质控分析,保证数据结果的准确度、可靠性。采用多元统计分析,包括采用无监督的主成分分析方法(PCA)来观察各样品之间的总体分布和组间的离散程度,然后用有监督的正交偏最小二乘法分析(OPLS-DA)来区分各组间代谢轮廓的总体差异,寻找组间的差异代谢物,进一步根据变量重要性(Variable Importance on Projection Scores, VIP>1.0)结合 t 检验($p<0.05$)筛选出组间差异代谢物。

2 结果与分析

2.1 茯砖茶发花过程中感官审评及冠突散囊菌数量变化

表1 茯砖茶发花过程中感官审评及冠突散囊菌数量变化

Table 1 Sensory evaluation and changes in the number of *Eurotium cristatum* in the flowering process of Fu brick tea

茶样	外形(分值)	汤色(分值)	香气(分值)	滋味(分值)	叶底(分值)	感官审评分	冠突散囊菌/(CFU/g)
FT0	砖面平整,湿润柔软,紧度适中,呈黑褐色,油亮,显梗,无肉眼可见金花,无黑霉、白霉、青霉、红霉等杂菌(70)	呈黄色,略显浊(70)	无菌花香,较浓青辛气(70)	有苦涩味,有青辛味(72)	黄褐,显梗,叶片完整,较软亮(80)	72	18×10 ²
FT7	砖面平整,表面较干燥,紧度适中,呈黑褐色,稍显油亮,显梗,金花较茂盛,无黑霉、白霉、青霉、红霉等杂菌(80)	橙红色,略显浊(82)	菌花香,淡青辛气(78)	略有苦涩,略有青辛味(85)	黑褐,显梗,叶片完整,软亮(83)	82	32×10 ⁴
FT14	砖面平整,表面干燥,紧度适中,呈黑褐色,显梗,金花普遍茂盛,无黑霉、白霉、青霉、红霉等杂菌(93)	棕红色,清澈明亮(92)	纯正菌花香,无青辛气(91)	略有苦涩,口感圆润、醇和(92)	黑褐,显梗,叶片完整,软亮(85)	91	45×10 ⁵

对茯砖茶发花过程中所取茶样的外形、汤色、香气、滋味以及叶底等5个相关因子进行感官审评,同时对茯砖茶发花过程中冠突散囊菌数量进行检测,结果如表1所示。由表1中感官审评结果可以发现,经过14 d的发花,茯砖茶的品质得到大幅的提升,逐步形成了其内质金花普茂,无杂菌,开汤后汤色红浓、

菌香浓郁、香气纯正、口感圆润、滋味醇和的风味和口感,以及叶底棕褐,叶片完整、软亮的独特特征^[9]。“金花”是茯砖茶区别于其它茶叶的重要特征,冠突散囊菌的数量常常做为评价茯砖茶质量的重要指标之一^[7],通过对发花过程中茶砖所含冠突散囊菌数量的检测发现,随着发花过程的进行,茶砖中冠突散囊菌的

数量逐步增多,其数量变化与茯砖茶感官审评结果正相关,至发花结束时,冠突散囊菌数量达到 45×10^5 CFU/g,符合 DBS 61/0006-2014《食品安全地方标准 泾阳茯砖茶》中特一级要求,说明在本发花过程中工艺条件控制良好,产品质量较好。

2.2 茯砖茶发花不同时期代谢物分布特征分析

2.2.1 主成分分析 (PCA)

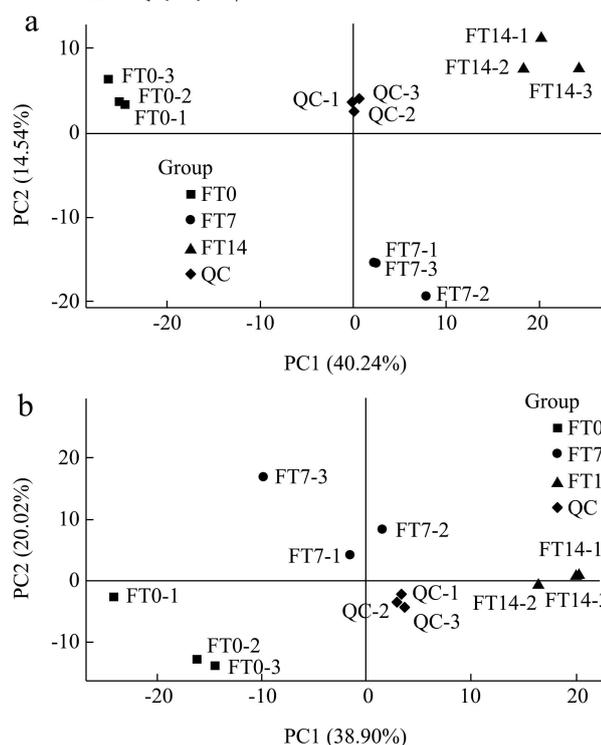
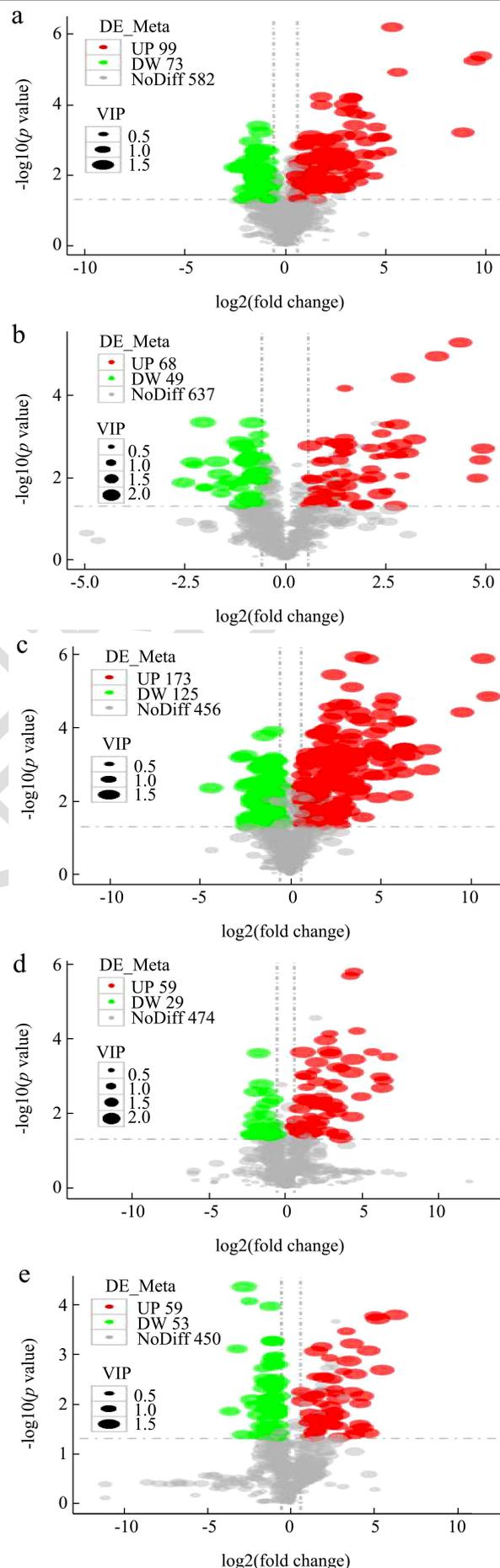


图1 茯砖茶发花不同时期各样本及质控的正离子模式 (a) 和负离子模式 (b) PCA 图

Fig.1 PCA results of samples and quality control in positive (a) and negative ion model (b) in the flowering process of Fu brick tea

通过对茯砖茶发花不同时期各样本以及质控样本进行主成分分析,可以从总体上反映各样本组间的总体差异以及组内样本之间的变异度大小。图 1a 和 1b 分别为茯砖茶发花不同时期各样本及质控样本的正、负离子模式 PCA 图,由图可知,在正离子模式下,第一主成分的贡献率为 40.24%,第二主成分的贡献率为 14.54%,二者之和为 54.78%,在负离子模式下,第一主成分的贡献率为 38.90%,第二主成分的贡献率为 20.02%,二者之和为 58.92%。从主成分分析图可以看出,茯砖茶发花不同时期的各组样本之间在正、负离子模式下均表现出明显的分离趋势,说明发花不同时期化合物差异较大,质控组内平行样本成分接近,聚集在 PCA 图的中心附近,表明方法稳定性较好,数据质量可靠。

2.2.2 差异代谢物筛选



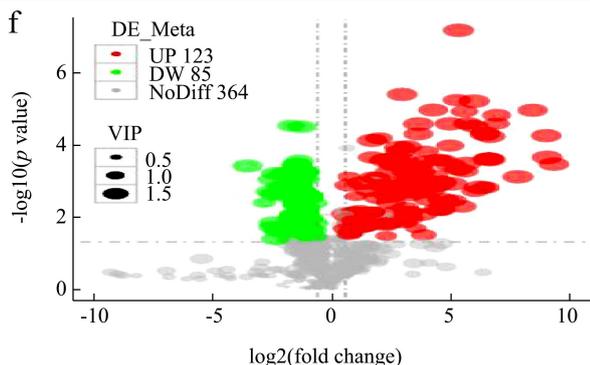


图2 茯砖茶发花不同时期差异代谢物火山图

Fig.2 Differential metabolite volcano map in the flowering process of Fu brick tea

注：a、b、c和d、e、f分别为正、负离子模式下茯砖茶发花不同时期差异代谢物火山图，其中a、d为FT7.VS.FT0，b、e为FT14.VS.FT7，c、f为FT14.VS.FT0。

茯砖茶发花不同时期各样本中共检测到1316个物质信号，其中正离子模式下754个，负离子模式下562个，通过OPLS-DA分析，设定阈值为VIP>1.0，上调代谢物Fold Change (FC) >1.5和下调代谢物FC<0.667且p<0.05，筛选出的差异代谢物结果见图2。

由图2a和2d可以看出，发花7d和发花0d在正离子模式下的差异代谢物共有172个，其中99个上调，即相对含量增加，73个下调，即相对含量下降，负离子模式下的差异代谢物共有88个，其中59个上调，29个下调。进一步分析可知，在茯砖茶发花的0d~7d，两种离子模式下差异代谢物占代谢物总数19.76%，其中上调差异代谢物总数为158个，占差异代谢物总数60.77%，102个下调，占差异代谢物总数39.23%。图2b和2e可以看出，发花14d和发花7d在正离子模式下的差异代谢物共有117个，其中68个上调，49个下调，负离子模式下的差异代谢物共有112个，其中59个上调，53个下调，差异代谢物占代谢物总数17.40%，且上调代谢物占差异代谢物总数55.46%，下调代谢物占差异代谢物总数44.54%。图2c和2f可以看出，发花14d和发花0d在正离子模式下的差异代谢物共有298个，其中173个上调，125个下调，在负离子模式下的差异代谢物共有208个，其中123个上调，85个下调，差异代谢物占代谢物总数38.45%，且上调代谢物占差异代谢物总数58.50%，下调代谢物占差异代谢物总数41.50%。上述结果表明，茯砖茶发花不同时期样本代谢物差异明显，且上调差异代谢物数量大于下调代谢物数量。

Venn图直观的体现了不同分组之间共有及特有差异代谢物数量，以及多组差异代谢物之间的关系。从图3可以看出，在正离子模式下，各组差异代谢物总

数为367个，FT7.VS.FT0与FT14.VS.FT7、FT14.VS.FT0组共有的差异代谢物数量分别为14和130个，分别占总数的3.81%和35.42%，而FT14.VS.FT7和FT14.VS.FT0组共有的差异代谢物数量为79个，占总数的21.52%，3个不同分组共有的差异代谢物数量为3个，仅占总数的0.82%。在负离子模式下，各分组差异代谢物总数为246个，其中FT7.VS.FT0与FT14.VS.FT7、FT14.VS.FT0组共有的差异代谢物数量分别为19和62个，分别占总数的7.72%和25.20%，而FT14.VS.FT7和FT14.VS.FT0组共有的差异代谢物数量为87个，占总数的35.37%，3个不同分组共有的差异代谢物数量为6个，占总数的2.44%。上述结果表明，差异代谢物在发花不同时期的变化规律各异。

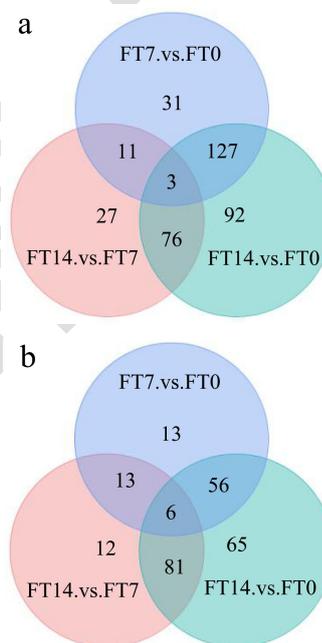


图3 正离子模式 (a) 和负离子模式 (b) 差异代谢物 Venn 图

Fig.3 Venn analysis of differential metabolite in positive (a) and negative ion model (b)

2.2.3 主要差异代谢成分分析

在数据库比对的基础上，查阅相关文献鉴定出的茯砖茶发花不同时期代谢物差异主要可分为生物碱、有机酸及其衍生物、氨基酸及其衍生物、黄酮类、甾体及其衍生物、苯丙素类、香豆素类、多酚及儿茶素、维生素、萜类等，具体如表2所示。

从表2可以看出已鉴定出的各不同差异代谢物种类数量及变化情况，苯丙素类、香豆素类、多酚及儿茶素类、维生素和萜类在发花过程中鉴定出的差异代谢物数量较少，生物碱和有机酸为发花过程中数量较多的差异代谢物，其中，在发花各不同阶段，生物碱差异代谢物上调数量均略高于下调数量，而有机酸中上调数量明显高于下调数量。氨基酸及其衍生物的差

异代谢物数量仅次于生物碱和有机酸,在发花的0 d~7 d,代谢物下调数量高于上调数量,而在7 d~14 d,氨基酸及其衍生物的差异代谢物数量与0 d~7 d相比明显降低,且在该阶段上调数量大于下调数量,从0 d~14 d全过程看,氨基酸及其衍生物的差异代谢物以下调为

主。黄酮类化合物差异代谢物在0 d~7 d,上调数量高于下调数量,而在7 d~14 d,上调数量低于下调数量,0 d~14 d整个发花过程中,上调数量和下调数量相当,甾体及其衍生物在发花过程中差异代谢物以上调为主。

表2 茯砖茶发花不同时期的差异代谢物种类及变化情况

Table 2 Differential metabolite types and changes in the flowering process of Fu brick tea

代谢物种类	FT7.VS.FT0			FT14.VS.FT7			FT14.VS.FT0		
	差异总数	上调	下调	差异总数	上调	下调	差异总数	上调	下调
生物碱	43	24	19	29	16	13	99	51	48
有机酸及其衍生物	38	24	14	35	21	14	63	40	23
氨基酸及其衍生物	29	7	22	8	6	2	26	6	20
黄酮类	13	8	5	13	4	9	22	11	11
甾体及其衍生物	12	11	1	6	3	3	14	11	3
萜丙素类	8	7	1	14	7	7	19	8	11
香豆素类	6	6	0	5	2	3	11	7	4
多酚及儿茶素类	6	4	2	7	1	6	15	7	8
维生素	4	2	2	1	1	0	4	3	1
萜类	1	0	1	6	6	0	3	3	0

表3 茯砖茶发花不同时期生物碱代谢物差异

Table 3 Differences of alkaloid metabolites in the flowering process of Fu brick tea

序号	保留时间/min	代谢物	相对峰面积/ \bar{x} (sd)			类型
			FT0	FT7	FT14	
1	8.82	咖啡碱	2.68E+11(1.23E+10)	2.76E+11(1.62E+10)	2.79E+11(1.21E+10)	上调
2	7.45	可可碱	1.48E+10(1.32E+9)	1.59E+10(4.15E+8)	1.53E+10(9.65E+8)	上调
3	8.19	茶碱	3.92E+8(1.81E+8)	3.74E+8(2.45E+7)	1.25E+9(5.93E+8)	上调
4	11.71	异喹啉	3.00E+6(1.08E+5)	7.79E+7(5.98E+6)	3.07E+8(6.61E+7)	上调
5	9.64	相思子碱	5.53E+6(1.01E+6)	1.01E+7(1.94E+6)	2.73E+7(4.99E+6)	上调
6	11.18	长春质碱	7.64E+5(2.58E+4)	1.01E+6(3.28E+5)	9.56E+6(1.72E+6)	上调
7	1.35	肉毒碱	1.10E+8(1.05E+7)	2.92E+8(6.71E+7)	6.24E+8(7.12E+7)	上调
8	1.52	甜菜碱	3.54E+9(8.86E+8)	1.94E+9(3.37E+8)	3.18E+9(8.75E+7)	下调
9	7.86	吡啶	2.39E+8(1.26E+7)	8.73E+7(1.95E+7)	1.15E+8(2.15E+7)	下调
10	7.76	槟榔碱	2.69E+7(4.98E+6)	1.42E+7(2.90E+6)	9.29E+6(7.99E+5)	下调

2.3 茯砖茶发花不同时期主要成分变化规律

2.3.1 生物碱

生物碱是茯砖茶发花过程中的主要差异代谢物之一,对茯砖茶发花过程中咖啡碱、可可碱和茶碱以及结合VIP值筛选出0 d~14 d全发花过程中其他部分生物碱差异代谢物进行分析,各代谢物名称、保留时间及在发花不同时期相对峰面积等如表3所示,将发花结束时峰面积和发花初始进行对比,峰面积增大的记为上调,反之为下调。

咖啡碱、可可碱和茶碱是茶中主要的生物碱^[17],研究表明,发花对茯砖茶中部分生物碱有较大影响。

由表3可以看出,发花结束(14 d)时,茯砖茶中咖啡碱和可可碱含量均较发花初期(0 d)增加,但差异不显著($p>0.05$),咖啡碱本身较为稳定,项飞等^[18]以同一茶树鲜叶原料在同一条件下采用不同工艺分别加工为绿茶、红茶、白茶、青茶、黄茶和黑茶,结果发现各不同种类茶中咖啡碱含量无显著差异。而茶碱在发花过程中上调明显,发花结束时茶碱相对峰面积较发花初期增加219.47%。其他生物碱中,肉毒碱、异喹啉、相思子碱、长春质碱在发花过程中均上调,而甜菜碱、吡啶和槟榔碱均下调。肉毒碱亦称维生素BT,具有促进脂类代谢,降低血脂,治疗肥胖等作用^[19],和FT0相比,其在FT14样本中相对峰面积增加468.11%,肉

毒碱含量的增加有助于增强茯砖茶减肥功效。异喹啉类生物碱具有降血压、降血糖、抗炎和抗肿瘤等多种生物活性^[20,21]，茯砖茶发花过程中，异喹啉上调明显，发花结束时其相对峰面积约为发花初始的 100 倍。而具有抗炎、免疫增强和抗肝损伤作用的相思子碱^[22]和发花初期相比，其发花结束时样本相对峰面积增加 394.49%。长春质碱具有较好的降血糖、利尿和止血作用^[23]，FT14 和 FT0 相比，相对峰面积增加 1 152.21%。甜菜碱是一种广泛分布于动植物及微生物中的天然产物，是枸杞、甜菜等的活性成分，具有提高机体抗氧化酶活力的作用^[24]。甜菜碱在发花 0 d~7 d 呈下降趋势，而在 7 d~14 d 上调明显，发花结束时含量与发花初期相当。吲哚和槟榔碱在发花过程中下调明显，发花结束和发花初始相比，相对峰面积分别下降 52.13%和 65.51%，槟榔碱具有致口腔粘膜下纤维性变的作用，从而导致口腔癌，此外，槟榔碱对神经系统和生殖系统均有一定的毒害作用，其下调对于提高茯砖茶安全质量具有一定作用^[25]。

2.3.2 多酚及儿茶素类

多酚及儿茶素是茯砖茶中重要的活性物质，发花不同时期主要多酚及儿茶素和差异代谢物名称、保留时间及在发花不同时期相对峰面积等如表 4 所示，将发花结束时峰面积和发花初始进行对比，将峰面积增大的记为上调，反之为下调。

由表 4 可以看出，在多酚差异代谢物中，除顺式白藜芦醇、白果内酯和 4-甲基儿茶酚呈下调水平外，其余均上调，其中以鼠尾草酚上调最为明显，其次为白藜芦醇、异丹叶大黄素、厄弗酚和二氢白藜芦醇。儿茶素差异代谢物中，和 FT0 相比，FT14 中儿茶素，表儿茶素、没食子酸乙酯和表没食子儿茶素分别上调 54.00%、52.52%、1 494.49%和 56.35%，儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素-3-O-没食子酸酯和表儿茶素没食子酸酯分别下调 47.08%、56.86%、67.31%和 62.63%。多酚和儿茶素是茯砖茶中主要的抗氧化活性成分和呈味物质，尤其儿茶素类物质对赋予茶汤苦、涩味以及特有的收敛性具有重要作用^[17]。研究发现，EGCG、ECG 等酯型儿茶素的苦涩、收敛性强，而 EGC、EC 等非酯型儿茶素滋味较醇和、回味爽口^[26]，因此，发花过程中 EGCG、ECG 的下调和 EGC、EC 的上调对于赋予茯砖茶口感醇和的特征具有重要作用。

2.3.3 黄酮类

对 FT7.VS.FT0、FT14.VS.FT7、FT14.VS.FT0 差异代谢物进行鉴别，并对鉴别出的代谢物在发花结束和发花初始的相对峰面积进行对比，同时分析主要黄酮类代谢物在发花过程中的变化，将峰面积增大的记为上调，反之为下调，相关结果如表 5 所示。

表 4 茯砖茶发花不同时期多酚及儿茶素类代谢物差异

Table 4 Differences of polyphenol and catechin metabolites in the flowering process of Fu brick tea

序号	保留时间/min	代谢物	相对峰面积/ \bar{x} (sd)			类型
			FT0	FT7	FT14	
1	10.68	厄弗酚	1.85E+6(1.68E+5)	2.78E+6(6.09E+5)	4.18E+6(7.56E+5)	上调
2	10.81	白藜芦醇	1.95E+7(1.73E+6)	4.23E+7(1.12E+7)	6.46E+7(3.11E+6)	上调
3	11.13	二氢白藜芦醇	6.29E+6(1.14E+6)	8.57E+6(3.27E+6)	1.25E+7(9.06E+4)	上调
4	13.68	鼠尾草酚	2.66E+6(9.81E+5)	5.79E+7(7.16E+6)	4.95E+8(1.48E+8)	上调
5	7.55	苏木精	3.59E+5(1.69E+4)	1.02E+6(3.12E+5)	4.02E+5(1.22E+5)	上调
6	10.96	异丹叶大黄素	1.49E+6(1.34E+5)	2.41E+6(5.64E+5)	4.93E+6(4.41E+5)	上调
7	9.26	儿茶素(C)	2.24E+10(3.28E+9)	5.39E+10(1.08E+10)	3.45E+10(2.25E+9)	上调
8	8.09	表儿茶素(EC)	5.52E+9(3.65E+8)	8.59E+9(1.16E+9)	8.42E+9(7.66E+8)	上调
9	1.68	没食子酸乙酯(EG)	8.21E+6(1.21E+6)	4.27E+7(3.44E+7)	1.31E+8(2.82E+7)	上调
10	7.90	表没食子儿茶素 (EGC)	1.32E+10(2.09E+9)	2.83E+10(4.47E+9)	2.07E+10(1.64E+9)	上调
11	10.61	顺式白藜芦醇	1.92E+7(2.34E+6)	1.77E+7(3.84E+6)	9.95E+6(1.19E+6)	下调
12	9.02	白果内酯	2.44E+7(8.45E+6)	2.24E+7(4.40E+6)	1.18E+7(2.13E+6)	下调
13	10.30	4-甲基儿茶酚	9.42E+6(1.69E+6)	4.74E+6(1.37E+6)	2.44E+6(2.89E+5)	下调
14	9.25	儿茶素没食子酸酯 (CG)	8.56E+9(2.01E+9)	4.95E+9(1.50E+9)	4.53E+9(6.01E+8)	下调
15	9.19	表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)	2.95E+10(1.31E+9)	1.68E+10(4.77E+9)	1.27E+10(3.73E+8)	下调
16	9.73	表儿茶素-3-O-没食子酸酯	4.29E+10(4.19E+9)	1.89E+10(2.82E+9)	1.40E+10(2.27E+9)	下调
17	8.86	表儿茶素没食子酸酯 (ECG)	8.18E+6(8.52E+5)	5.52E+6(1.05E+6)	3.06E+6(3.47E+5)	下调

表5 茯砖茶发花不同时期黄酮类代谢物差异

Table 5 Differences of flavonoid metabolites in the flowering process of Fu brick tea

序号	保留时间/min	代谢物	相对峰面积/ \bar{x} (sd)			类型
			FT0	FT7	FT14	
1	8.03	二氢槲皮素	1.37E+7(6.15E+5)	4.09E+7(6.55E+6)	6.56E+7(6.18E+6)	上调
2	1.35	龙血素 A	1.70E+6(2.86E+5)	5.54E+6(1.54E+6)	1.06E+7(9.82E+5)	上调
3	8.71	二氢杨梅素	1.97E+7(5.02E+6)	1.30E+8(1.10E+7)	9.70E+7(1.75E+7)	上调
4	11.05	橙皮素	1.36E+7(1.20E+6)	1.88E+7(3.37E+6)	2.14E+7(2.37E+6)	上调
5	11.96	香叶木素	4.80E+7(1.07E+7)	6.34E+7(1.84E+7)	1.33E+8(1.01E+7)	上调
6	9.02	普鲁宁	6.30E+6(4.57E+5)	7.76E+6(1.50E+6)	1.09E+7(2.41E+6)	上调
7	7.73	异鼠李素-3-O-新橙皮糖苷	1.81E+5(1.53E+4)	2.31E+5(8.31E+4)	1.82E+7(4.46E+6)	上调
8	11.26	圣草素	4.82E+7(9.47E+6)	7.52E+7(1.22E+7)	1.10E+8(1.04E+7)	上调
9	11.99	根皮素	7.93E+7(1.03E+7)	8.71E+7(3.55E+7)	1.48E+8(2.95E+7)	上调
10	10.38	鸢尾黄素	6.58E+6(1.53E+6)	9.78E+6(3.84E+6)	1.45E+7(2.25E+6)	上调
11	11.84	柚皮素	1.90E+8(3.98E+7)	2.34E+8(8.05E+7)	3.37E+8(2.32E+7)	上调
12	11.39	宝藜苷	1.04E+6(4.75E+5)	4.01E+6(1.25E+6)	1.73E+6(3.33E+5)	上调
13	7.77	金腰乙素	8.55E+5(1.27E+5)	1.84E+6(2.41E+5)	1.63E+6(5.63E+5)	上调
14	7.57	汉黄芩素	3.45E+5(3.20E+4)	8.72E+5(1.12E+5)	3.53E+5(8.40E+4)	上调
15	11.51	大豆甙	3.06E+6(1.59E+5)	2.86E+6(3.37E+5)	1.49E+6(2.03E+5)	下调
16	8.96	金雀异黄酮	4.26E+7(4.65E+6)	3.66E+7(3.48E+6)	2.14E+7(4.23E+5)	下调
17	7.77	鞣花酸	2.66E+7(4.33E+6)	8.72E+6(1.18E+6)	5.93E+6(1.89E+6)	下调
18	8.31	2'-O-没食子酰基金丝桃苷	3.91E+6(4.54E+5)	2.90E+6(9.61E+5)	2.03E+6(2.66E+5)	下调
19	10.57	落新妇苷	1.40E+7(2.04E+6)	1.43E+7(6.86E+6)	4.95E+6(1.07E+6)	下调
20	10.47	黄酮	2.41E+6(3.71E+5)	9.69E+5(4.05E+5)	1.11E+6(2.30E+5)	下调
21	12.07	柚皮苷二氢查尔酮	1.54E+6(3.92E+5)	1.81E+6(4.19E+5)	6.69E+5(1.88E+5)	下调
22	10.35	水飞蓟亭	3.18E+7(9.35E+6)	2.80E+7(7.49E+6)	1.66E+7(2.29E+6)	下调
23	11.65	槲皮素	1.77E+9(5.47E+8)	8.79E+8(1.47E+8)	9.78E+8(2.13E+8)	下调
24	8.69	王不留行黄酮苷	7.17E+5(2.94E+4)	1.35E+6(3.98E+5)	6.26E+5(3.00E+4)	下调
25	1.57	桑黄素	1.10E+6(9.68E+5)	2.39E+5(6.68E+4)	6.79E+5(1.37E+5)	下调
26	8.42	原花色苷 B1	4.29E+8(5.70E+7)	6.20E+8(7.21E+7)	3.48E+8(1.71E+7)	下调
27	10.53	芒柄花苷	7.62E+6(2.70E+6)	7.65E+6(4.54E+5)	3.97E+6(6.76E+5)	下调

二氢槲皮素和二氢杨梅素为二氢黄酮醇类化合物,根皮素为具有二氢查尔酮结构的黄酮类化合物,它们和龙血素 A、香叶木素、汉黄芩素、金腰乙素等均具有较好的抗炎活性、抑菌和抗肿瘤作用^[27,28],鸢尾黄素为一种天然存在的异黄酮,具有抗炎、抗氧化等作用^[29],普鲁宁具有保护组织细胞,调节血糖平衡,抑制肿瘤的作用^[30],橙皮素、柚皮素和圣草素为黄烷酮类化合物,具有清除自由基、抗炎和抗肿瘤作用^[31],橙皮素为具有独特的风味的淡黄色固体,和柚皮素均有增甜的作用^[32,33],其在发花过程中的上调对于有助于改善茯砖茶的汤色、滋味和香味,上述黄酮类化合物在发花过程中呈上调水平,对于提高茯砖茶的品质和保健功能具有一定作用。槲皮素为茶叶中重要的黄酮醇类化合物,在发花过程中下降明显,和发花初期相

比,发花结束时降幅达 44.84%,此外鞣花酸、落新妇苷、柚皮苷二氢查尔酮、黄酮、大豆甙、金雀异黄酮等均下调明显,降幅分别达 77.66%、64.69%、56.53%、53.88%、51.23%和 49.78%。

2.3.4 氨基酸及其衍生物

对 FT7.VS.FT0、FT14.VS.FT7、FT14.VS.FT0 所有氨基酸差异代谢物进行鉴别,并对鉴别出的代谢物在发花结束和发花初始的相对峰面积进行对比,分析氨基酸及其衍生物在发花过程中的变化,将峰面积增大的记为上调,反之为下调,结果如表 6 所示。

茯砖茶发花过程中由于微生物生长繁殖需要大量的氮源,因而导致氨基酸总量降幅较大。茶氨酸是茶叶中代表氨基酸,占氨基酸总量的 50%以上,实验表明,发花末期和初期相比,茶氨酸含量变化不大,因

而未出现在氨基酸类差异代谢物中,茶氨酸具有焦糖香和鲜爽味,能缓解苦涩味,增强甜味感^[34],这为茯砖茶良好的口感奠定了基础。由表6可以看出,在鉴别出的差异代谢物中,上调氨基酸有8种,其中缬氨酸上调幅度最大,为574.04%,缬氨酸为苦味氨基酸,但在茶叶中含量极低^[35],其次为乙酰基-L-苏氨酸,上调505.86%,上调幅度最小为L-酵母氨酸,上调46.49%。下调氨基酸有22种,占总数的73.33%,其中4-胍基丁酸降幅最大,为73.54%,其次为D-丝氨酸,降幅为66.36%,其余降幅介于26.51%~62.43%。氨基

酸在茶叶中主要赋予产品鲜爽的口感,而醇和是茯砖茶重要的风味特征之一,因此,发花过程中氨基酸的下调有助于促进茯砖茶品质的形成,这与普洱茶有类似之处^[36]。由于氨基酸类物质呈味差异较大,既有呈现鲜味、甜味的氨基酸,又有呈现苦味、酸味的氨基酸,各不同氨基酸对茶汤滋味既有独立影响,又有协同作用^[37],因此,应继续深入研究茯砖茶发花过程中氨基酸含量和组成对茯砖茶滋味的影响,并进一步进行代谢调控研究,从而为改善茯砖茶汤滋味提供新的思路和方法。

表6 茯砖茶发花不同时期氨基酸及其衍生物代谢物差异

Table 6 Differences of amino acid and their derivatives metabolites in the flowering process of Fu brick tea

序号	保留时间/min	代谢物	相对峰面积/ $\bar{x}(sd)$			类型
			FT0	FT7	FT14	
1	1.36	L-酵母氨酸	2.07E+7(7.32E+6)	5.54E+7(1.77E+7)	3.03E+7(2.07E+6)	上调
2	6.77	乙酰基-L-苏氨酸	1.25E+7(8.68E+5)	1.02E+8(1.23E+7)	7.57E+7(1.29E+7)	上调
3	1.37	缬氨酸	2.60E+9(2.48E+8)	1.04E+10(2.11E+9)	1.75E+10(1.24E+9)	上调
4	1.48	DL-2-氨基正辛酸	1.12E+7(3.88E+5)	1.95E+7(5.00E+6)	4.69E+7(5.07E+6)	上调
5	1.43	N-乙酰-L-谷氨酸	1.70E+7(2.28E+6)	2.48E+7(5.56E+6)	2.64E+7(2.63E+6)	上调
6	10.53	N-苯基乙酰甘氨酸	1.93E+7(5.74E+6)	2.38E+7(5.55E+6)	4.18E+7(7.64E+6)	上调
7	1.48	N- α -乙酰-L-精氨酸	2.55E+7(7.00E+6)	3.78E+7(1.46E+7)	5.09E+7(1.29E+7)	上调
8	1.30	组氨酸	2.65E+7(1.01E+7)	2.83E+7(2.67E+6)	5.44E+7(1.01E+7)	上调
9	4.07	2-氨基庚二酸	1.83E+8(3.26E+7)	5.61E+8(7.70E+7)	1.35E+8(1.14E+7)	下调
10	3.32	2-羟基苯丙氨酸	1.50E+9(4.20E+8)	5.88E+8(1.54E+8)	7.86E+8(2.33E+8)	下调
11	1.48	4-胍基丁酸	6.24E+8(8.20E+7)	1.14E+8(3.45E+7)	1.65E+8(4.26E+7)	下调
12	1.41	DL-丙氨酸	2.92E+8(5.02E+7)	1.19E+8(1.72E+7)	1.43E+8(3.58E+7)	下调
13	1.31	DL-精氨酸	4.56E+8(7.54E+7)	1.81E+8(4.97E+7)	2.34E+8(2.53E+7)	下调
14	7.89	DL-色氨酸	7.87E+8(3.05E+7)	2.51E+8(8.79E+7)	2.96E+8(7.09E+7)	下调
15	1.40	D-丝氨酸	2.03E+8(2.13E+7)	7.77E+7(1.74E+7)	6.83E+7(9.91E+6)	下调
16	7.34	L(+)-精氨酸	5.07E+5(7.34E+4)	2.96E+5(7.34E+3)	2.96E+5(2.09E+4)	下调
17	2.95	L-羟基脯氨酸	7.03E+7(1.46E+7)	4.50E+7(5.27E+6)	3.91E+7(4.50E+6)	下调
18	3.00	L-正亮氨酸	1.02E+10(9.22E+8)	3.45E+9(1.16E+9)	4.15E+9(8.42E+8)	下调
19	6.53	L-苯丙氨酸	8.39E+9(1.74E+9)	3.06E+9(4.87E+8)	3.83E+9(1.37E+9)	下调
20	2.30	L-焦谷氨酸	3.08E+10(5.02E+9)	1.51E+10(4.31E+9)	1.41E+10(3.48E+9)	下调
21	1.38	蛋氨酸亚砷	6.10E+7(1.34E+7)	3.22E+7(5.80E+6)	3.49E+7(7.38E+6)	下调
22	8.48	N-乙酰-DL-缬氨酸	3.93E+7(3.32E+6)	1.69E+7(1.91E+6)	2.02E+7(1.52E+6)	下调
23	10.04	N-乙酰-L-亮氨酸	2.59E+7(3.99E+6)	1.34E+7(2.32E+6)	1.54E+7(2.40E+6)	下调
24	1.41	苏氨酸	3.61E+8(3.99E+7)	1.42E+8(1.39E+7)	1.51E+8(3.09E+7)	下调
25	2.20	N-乙酰-L-天门冬氨酸	3.47E+7(1.11E+6)	2.36E+7(3.93E+6)	2.25E+7(3.20E+06)	下调
26	12.39	L-高丝氨酸	7.92E+6(1.23E+6)	5.48E+6(2.98E+5)	5.10E+6(8.65E+5)	下调
27	2.19	丙氨酸-L-酪氨酸	2.16E+8(5.05E+7)	1.45E+8(6.10E+6)	1.22E+8(2.51E+7)	下调
28	1.65	N-乙酰丙氨酸	4.27E+7(6.37E+5)	2.07E+7(5.98E+6)	2.42E+7(2.73E+6)	下调
29	9.13	N-乙酰-L-酪氨酸	2.97E+6(7.12E+5)	2.60E+6(1.16E+6)	1.41E+6(2.64E+5)	下调
30	1.43	2,6-二氨基庚二酸	5.44E+8(1.75E+7)	6.65E+8(9.88E+7)	3.84E+8(5.34E+7)	下调

3 讨论

茯砖茶为黑茶类全发酵茶,“发花”是茯砖茶加工过程中的关键步骤,通过发花不仅大大降低了原料本身由于较高的酚/氨比而导致的粗涩味,使得茯砖茶口感更醇和^[38],而且赋予了茯砖茶特有的“菌花香”,而“菌花香”融入茶汤形成的“菌花香”进一步改善了茯砖茶的口感和风味,提升了产品品质。研究表明,发花过程是以冠突散囊菌为主的金花菌群协同作用的固态发酵过程^[7],在湿热环境下,由于微生物的作用,茯砖茶中活性成分发生了显著的变化,这与非靶向代谢组学分析结果相符。傅冬和等^[39]对茯砖茶加工过程中主要化学成分的变化研究发现,茯砖茶加工过程中内含成分以下降为主,且发花阶段是内含成分下降的主要环节,在此过程中,氨基酸、茶多酚、黄酮类和总儿茶素下降幅度分别为36.84%、50.86%、50.21%和61.68%,仅咖啡碱下降幅度较小,为10.85%。进一步结合本文非靶向代谢研究结果分析可知,虽然茯砖茶发花过程中各活性成分总量呈下降趋势,但仍有部分活性成分含量亦上升明显,从而导致生物碱、多酚及儿茶素、黄酮类和氨基酸等主要活性成分的组成和结构发生了较大的变化,这对于有效的改善茯砖茶的口感、风味和保健功效具有重要作用,如多酚由于酶促氧化向茶褐素转变不仅改善了茶汤颜色^[8],而且降低了涩味,氨基酸的变化促进了醇和滋味的形成^[34],以橙皮素、柚皮素等为代表的黄酮类化合物则对茯砖茶汤色、滋味和香味的改善均有重要作用^[32,33]。因此,发花的特殊工艺赋予了茯砖茶独特的产品特征。茯砖茶为全发酵茶中的后发酵茶,具有“越陈越香”的特点^[40],陈化和储藏过程中,茯砖茶在以冠突散囊菌为主的金花菌群的持续作用下促进了其感官品质的进一步提升,这与发花过程具有类似作用。此外,尽管传统靶向研究结果表明茯砖茶加工和储藏过程中主要功能成分含量下降明显,但茯砖茶仍具有较好的保健作用^[41],除抗氧化作用随着加工过程的进行和陈化时间的延长降低外,降脂、降压、降糖和抗炎、抗肿瘤活性均较好。这一方面可能是由于部分保健功能突出的活性成分在茯砖茶发花过程中含量增加所导致,如肉苁蓉碱、异喹啉、长春质碱等有助于增强茯砖茶降脂、降压和抗炎等作用,二氢槲皮素、二氢杨梅素、龙血素A、香叶木素、汉黄芩素、金腰乙素等的增加有助于增强茯砖茶抗肿瘤作用;另一方面发花过程中还可能产生了其他新的成分,但由于非靶向代谢组学主要是针对低分子量代谢物的分析,因此发花过程中产生的新的成分还需要结合其他方法进一步深入研究。

4 结论

综上,运用UPLC-MS对茯砖茶发花过程中不同时间代谢产物进行检测,主成分分析结果表明茯砖茶发花过程中内含成分存在较大差异,在检测到的1316个物质信号中,0d和7d、7d和14d以及0d和14d之间分别筛选出260、229和506个代谢差异物,筛选和鉴定结果表明,这些物质属于生物碱、氨基酸及其衍生物、黄酮类、茶多酚及儿茶素、有机酸及其衍生物、苯丙素类、维生素、萜类等。进一步对影响茯砖茶品质和功能的主要代谢物质进行分析发现,发花改变了茯砖茶生物碱、多酚及儿茶素、黄酮和氨基酸等主要代谢物的组成,这不仅降低了茯砖茶的苦涩味,促进了醇和口感和红浓汤色的形成,且肉苁蓉碱、异喹啉、相思子碱、长春质碱等生物碱在发花过程中的上调有助于提升茯砖茶降脂、降压和抗炎等功效。和传统活性成分分析方法相比,非靶向代谢组学分析技术更加全面的揭示了茯砖茶发花过程中代谢物整体特征,进一步加深了对茯砖茶活性成分的了解,后续有必要对采用代谢组学分析出的差异代谢物进一步进行定量分析,并研究差异代谢物与茯砖茶风味和保健功能的相关性,为深刻揭示茯砖茶风味和保健功能形成机制提供依据和参考。

参考文献

- [1] 李珍,雷雨,苏晓倩,等.茯砖茶加工及保健功能研究进展[J].中国食物与营养,2010,1:40-42
- [2] Li Q, Liu Z H, Huang J A, et al. Anti-obesity and hypolipidemic effects of Fuzhuan brick tea water extract in high-fat diet-induced obese rats [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012, 93(6): 1310-1316
- [3] Wu Y Y, Ding L, Xia H L, et al. Analysis of the major chemical compositions in Fuzhuan brick-tea and its effect on activities of pancreatic enzymes *in vitro* [J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 9(40): 6748-6754
- [4] Wang Y, Xu A, Liu P, et al. Effects of Fuzhuan brick-tea water extract on mice infected with *E.coli* O157:H7 [J]. Nutrients, 2015, 7(7): 5309-5326
- [5] Liu B, Yang T, Zeng L N, et al. Crude extract of Fuzhuan brick tea ameliorates DSS-induced colitis in mice [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(12): 2574-2582
- [6] 王增盛,施兆鹏,刘仲华,等.论茯砖茶品质风味形成机理[J].茶叶科学,1991,11:49-55
- [7] 曾桥,吕生华,李祥,等.不同原料茯砖茶活性成分及微生物多

- 样性分析[J].食品科学,2020,41(24):69-77
- [8] 王宇,胡文忠,管馨馨,等.茯砖茶主要化学成分及其功效研究进展[J].大连民族大学学报,2020,22(1):16-20
- [9] 杨秀芳,翁昆,祝雅松,等.加工中添加天然物质对改善茯砖茶感官品质的研究初报[J].中国茶叶加工,2007,3:24-25
- [10] 贾聪,芦鑫,高锦鸿,等.基于代谢组学分析不同颜色花生红衣的组成差异[J].食品科学,2019,40(19):46-51
- [11] Park S, Seo Y S, Hegeman A. Plant metabolomics for plant chemical responses to belowground community change by climate change [J]. *Journal of Plant Biology*, 2014, 57(3): 137-149
- [12] McGhie T K, Rowan D D. Metabolomics for measuring phytochemicals, and assessing human and animal responses to phytochemicals, in food science [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2011, 56(1): 147-158
- [13] 李鑫磊,俞晓敏,林军,等.基于非靶向代谢组学的白茶与绿茶、乌龙茶和红茶代谢产物特征比较[J].食品科学,2020,41(12):197-203
- [14] Ku K M, Kim J, Park H, et al. Application of metabolomics in the analysis of manufacturing type of Puerh tea and composition changes with different postfermentation year [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(1): 345-352
- [15] Wang T, Li X, Yang H, et al. Mass spectrometry-based metabolomics and chemometric analysis of Pu-erh teas of various origins [J]. *Food Chemistry*, 2018, 268: 271-278
- [16] 徐元昊.手筑茯砖茶生产过程中主要指标变化规律的研究[D].长沙:湖南农业大学,2019
- [17] 肖俊松,袁英髦,张爱雪,等.茶叶中茶多酚和生物碱的测定及聚类及线性判别分析[J].食品科学,2010,31(22):343-348
- [18] 项飞.六大茶类水提取物对离体大鼠心肌收缩力的影响[D].合肥:安徽农业大学,2016
- [19] 李景华,赵炎葱,韩光.降血脂药物中 L-肉毒碱的高效液相色谱法测定[J].化学研究,2014,24(4):390-393
- [20] 曹鹏,张紫薇,李滢,等.异喹啉类生物碱抑菌活性及抑菌机制研究进展[J].中国中药杂志,2016,41:2600-2606
- [21] 李丹,蒋建勤.苜蓿异喹啉类生物碱的药理活性研究进展[J].广东化工,2017,44(9):141-142
- [22] 钟正贤,李燕婧,陈学芬,等.相思子碱的药理作用研究[J].中医药导报,2009,1:8-10
- [23] 张琳,牛卉颖,杨磊,等.离子交换树脂对长春花中文多灵、长春质碱和长春碱的富集研究[J].离子交换与吸附,2008,24(3): 223-231
- [24] 金莉莉,于炎巧,朱晓玉,等.甜菜碱及叶酸的降血脂和抗氧化作用[J].辽宁大学学报(自然科学版),2019,46(2):142-150
- [25] 熊雄,李珂,易书瀚,等.食用槟榔中槟榔碱毒性及生理活性研究进展[J].食品工业科技,2017,38(20):328-335
- [26] 马林龙,刘艳丽,曹丹,等.不同茶树品种(系)的绿茶滋味分析及评价模型构建[J].农业工程学报,2020,36(10):277-286
- [27] 徐红艳,包怡红.天然产物中二氢槲皮素分离纯化及发展趋势[J].食品与机械,2010,26(5):173-176
- [28] 汪洪涛,李清光.二氢杨梅素应用研究进展[J].江苏调味副食品,2018,4:1-5
- [29] 肖竹平,郑大贵.鸢尾黄素的研究进展[J].上饶师范学院学报, 2008,28(3):41-49
- [30] 杨秋明,王之路,倪辉.酶法转化柚皮苷产普鲁宁工艺研究[J].中国食品学报,2016,16(5):68-75
- [31] 黄睿,沈淑好,陈虹霖,等.柑橘类黄酮的生物学活性及提高生物利用度技术研究进展[J].食品科学,2019,40(1):319-326
- [32] 于宏伟,刘树彬,张东红,等.橙皮素应用研究进展[J].安徽农业科学,2010,38(8):3907-3908
- [33] 李丹,毕丁文,杨璐,等.橙皮素的制备[J].石家庄学院学报, 2014,16(3):19-22
- [34] 林伟东,孙威江,郭义红,等.茶叶中茶氨酸的研究与利用[J].食品研究与开发,2016,37(20):201-206
- [35] 王梦馨,薄晓培,韩善捷,等.不同防冻措施茶园茶汤滋味差异的电子舌检测[J].农业工程学报,2016,32(16):300-306
- [36] 吕海鹏,张悦,杨婷,等.普洱茶滋味品质化学成分分析[J].食品与发酵工业,2016,42(2):178-183
- [37] 李立祥.绿茶氨基酸对滋味的影响[J].食品科学,1998,19(3): 16-20
- [38] 黄艳君.安化黑毛茶后发酵技术研究[D].长沙:湖南农业大学,2014
- [39] 傅冬和,刘仲华,黄建安,等.茯砖茶加工过程中主要化学成分的变化[J].食品科学,2008,29(2):64-67
- [40] 李适,湛滢,傅冬和,等.不同年份茯砖茶感官品质研究[J].茶叶科学,2016,36(5):500-504
- [41] Li Q, Huang J N, Li Y D, et al. Fungal community succession and major components change during manufacturing process of Fu brick tea [J]. *Scientific Report*, 2017, 7(1): 6947-6955