闻香识茶: 武夷岩茶地域香代谢组及离子组基础

刘扬¹, 卓座品¹, 石晨¹, 刘贝¹, 薛俊鹏¹, 梁丽妮¹, 王瑜¹, 许锐能^{1,2}, 刘宝顺², 徐茂兴², 叶江华², 孙丽莉^{1,2*}, 廖红^{1,2*}

1. 福建农林大学根系生物学研究中心, 福州 350002;

2. 武夷山茶产业研究院, 武夷山 354303

* 联系人, E-mail: lilisun@fafu.edu.cn; hliao@fafu.edu.cn

收稿日期: 2021-05-14; 接受日期: 2021-07-16; 网络版发表日期: 2021-11-16

农业农村部“茶树根系养分高效改良及应用创新团队”项目资助

摘要 不同地域的武夷岩茶具有独特香味, 俗称“地域香”, 但“地域香”是否存在及其影响因素缺乏科学依据. 本研究在武夷山四大产区随机选取350个茶园, 分别采集茶青3500份、土壤900份. 利用气相色谱飞行时间质谱仪测定茶青香气代谢物, 对329个代谢信号进行聚类分析, 发现武夷岩茶(水仙)香气代谢物聚为两大群, 分别为高山、正岩群和半岩、洲茶群, 证实岩茶“地域香”确实存在. 利用电感耦合等离子体质谱测定了茶青中13种矿质元素的浓度, 通过冗余分析和相关性分析, 发现磷是影响岩茶“地域香”的关键元素; “地域香”明显的高山茶区土壤有效磷含量与茶青磷浓度显著低于洲茶; 通过线性回归模型筛选出三种受磷影响最大的关键代谢物. 在此基础上, 通过高低磷施肥试验发现, 高磷处理显著降低了茶青中三种关键香气代谢物的相对含量. 综上所述, 本研究揭示了岩茶香气的地域性差异, 发现了磷是影响岩茶“地域香”的关键矿质元素, 为通过养分管理提升岩茶香气提供了科学依据.

关键词 岩茶, 香气, 代谢组, 离子组, 地域

茶(*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze)是世界上消费范围最广的非酒精饮料之一^[1,2]. 乌龙茶是起源于福建省的半发酵茶^[3], 而产于武夷山地区的乌龙茶又称“武夷岩茶”. 因独特的自然生态环境与制茶工艺, 武夷岩茶形成了风格特异的滋味和香气, 即所谓“岩骨花香”的“岩韵”品质^[4,5].

根据茶叶“岩韵”明显与否, 武夷岩茶主要分为三个产区, 即正岩区、半岩区和洲茶区. 产于武夷山慧苑坑、牛栏坑、大坑口、流香涧和悟源涧(称为三坑

两涧)为主要代表的茶园为正岩, 茶叶香气芬芳馥郁, 品具幽兰之胜, “岩韵”最显; 产于景区内除正岩区外的茶园为半岩, “岩韵”中等; 产于景区以外武夷山行政区域内的茶园为洲茶, 茶叶品质最次, “岩韵”不显^[6]. 关于“岩韵”与产地的关系, 已有不少报道. 例如, 周健等人^[7]利用近红外光谱技术结合偏最小二乘法判别分析(partial least squares discrimination analysis, PLS-DA), 王丽鸳等人^[8]通过高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)色谱数据制作

引用格式: 刘扬, 卓座品, 石晨, 等. 闻香识茶: 武夷岩茶地域香代谢组及离子组基础. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 273–284

Liu Y, Zhuo Z P, Shi C, et al. Scent of tea: metabonomic and ionic basis of regional aroma of Wuyi rock tea (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 273–284, doi: 10.1360/SSV-2021-0140

化学指纹图谱等方法, 均能对岩茶品种及产地进行初步分类识别。周志等人^[9]利用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱(ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS), 对武夷山不同茶区肉桂茶青样品进行分析, 证实武夷岩茶滋味中的“岩韵”客观存在, 并且产地对滋味差异的贡献超过30%。此外, 周志等人^[10]还发现, 土壤肥力是影响武夷岩茶滋味品质的主要因素。然而, 调控武夷岩茶品质的关键矿质元素是什么, 仍有待进一步研究。

近年来, 随着分析技术的迅猛发展, 人们开始通过组学进行茶叶品质的研究, 寻找影响茶叶品质关键因素, 为更客观、准确地评价和提升茶叶品质提供理论依据。Zhou等人^[11]利用UPLC-Q-TOF-MS技术, 分析了铁观音在不同季节和年份上的代谢物差异; 并结合线性回归分析方法, 筛选出了影响铁观音感官品质的最佳鉴别代谢物。Guo等人^[12]通过气相色谱-质谱法测定了武夷岩茶加工过程中的挥发性化合物, 发现2-乙基-3,5-二甲基吡嗪是岩茶中具有烘烤香气的芳香活性化合物。可见, 代谢组学是评价茶叶品质的有力工具, 有助于挖掘影响茶叶品质的关键代谢物。此外, 茶园的土壤养分状况能够影响茶叶的香气, 董迹芬等人通过茶园钾肥试验发现, 施钾可改善茶叶的香气品质, 增加香味物质含量, 并降低青草气味^[13]; 而土壤养分对代谢的影响直接反映在茶青中矿质元素的变化^[14,15]。利用离子组学对植物体内的矿质元素变化进行高通量快速分析, 有助于探究植物对环境的适应性^[16]。因此, 结合代谢组和离子组学技术, 是探究茶叶品质差异性寻找关键调控元素的有效手段。

香气是衡量武夷岩茶品质的重要因素, 也是岩茶感官评审的重要指标, 占比达30%^[17]。水仙是武夷岩茶的主栽品种之一, 茶叶香幽水醇^[18]。产自不同地域的岩茶具有独特的香味, 俗称“地域香”; 地处海拔600 m以上的高山水仙, 其香气与滋味可与正岩水仙相媲美, 也具有明显的高山“地域香”。此外, 传统认为岩茶在栽培管理中, 茶树修剪与不修剪模式也会影响岩茶的香气, 究其原因可能是由于茶叶代谢途径的改变^[19]。然而, 存在于消费者和感官评审中的武夷岩茶“地域香”是否客观真实? 如果是, 其主要影响因素是什么? 这些问题一直缺乏科学依据。

本研究以岩茶(水仙)作为研究对象, 在水仙四大

产区高山、正岩、半岩和洲茶的350个茶园, 采集3500份茶青样品和900份土壤样品, 利用气相色谱飞行时间质谱(gas chromatography time-of-flight mass spectrometry, GC-TOF-MS)和电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)分别测定茶青香气代谢物与矿质元素, 以期通过代谢组及离子组综合解析产自不同地域水仙香气的变化, 筛选影响“地域香”关键代谢物及其调控的矿质元素, 为科学管理茶园、改善岩茶品质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

茶树品种: 水仙(*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze cv. Shuixian)小乔木型。

采样时间: 2019年4月底。

分类条件: 地域条件分为高山区(Gaoshan, G)、正岩区(Zhengyan, Y)、半岩区(Banyan, B)和洲茶区(Zhou tea, Z)。修剪模式分为修剪水仙-矮丛(low fir, L)树龄30年以内、未修剪水仙-高丛(high fir, H)树龄30~60年、老丛(old fir, O)树龄60年以上。

采样地点: 具体采样地点详见图1A。高山区(海拔高度超600 m以上茶园), 共91家茶园, 茶青样品910份, 土壤样品147份, 包括吴三地、岚上村、坪地村、程墩村、衫圪村等。正岩区(以武夷山景区内, “三坑两涧”为主的茶园), 共84家茶园, 茶青样品840份, 土壤样品225份, 包括慧苑坑、倒水坑、大坑口、马头岩、悟源涧、流香涧、水帘洞、竹窠、九龙窠等。半岩区(九曲溪以内的非景区核心茶园), 共84家茶园, 茶青样品840份, 土壤样品246份, 包括燕子窠、白云寺、乞丐岩、野鸡窠、遇林亭、白云岩、三才峰、御茶园、岩茶村、天心村等。洲茶区(武夷山非景区范围内茶园), 共91家茶园, 茶青样品910份, 土壤样品282份, 包括南岸村、仙店村、前兰村、星村、柘洋村、曹墩村、朝阳村、洲头村等。

样品采集及处理: 茶青样品, 按照乌龙茶的采摘标准“驻芽三叶”(图1B), 每株茶树采摘10 g鲜叶, 作为一份茶青样品, 每个茶园随机采集10份生物学重复样品。采用热固样法, 105℃杀青30 min, 75℃持续烘干至恒重, 用于香气代谢组与离子组分析。土壤样品, 沿水仙

图 1 水仙不同地域茶园定位(A)及茶青和土壤样品采集示意图(B)

Figure 1 Locations of Shuixian tea plantations in different regions (A) and illustrations of tea leaves and soil sample collection (B)

树冠垂直投影区域,剔除土壤表层的枯枝落叶,利用土钻进行0~20 cm深度的土壤取样,作为一份土壤样品,每个水仙茶园随机采集3份生物学重复土壤样品,进行土壤有效磷含量测定^[20].

1.2 茶青香气代谢组分析

茶青挥发性代谢组测定采用顶空吸法,具体参照并适当优化Chen等人^[21]的方法。(i) 样品制备:将烘干后的茶青样品,进行手动研磨,研磨后立即称量2.0 g样品于SPME瓶中,快速拧紧盖子,采用MPS自动进样器(Gerstel, German)进行样品前处理,80℃孵化30 min,萃取60 min后进样。(ii) 代谢信号采集:毛细管色谱柱型号选用Rxi-5Sil MS(0.25 μm×0.25 mm×30 m, Restec, America),利用气相色谱质谱仪(7890B, Agilent, America)与飞行时间质谱仪(Pegasus HT, Leco, America)进行数据采集。进样量1 μL,进样口温度250℃,传输线温度270℃。不分流进样模式,载气为氦气,气体纯度99.99%以上,流速1.5 mL/min。柱温箱初始温度80℃,保持5 min,先以3℃/min升至210℃,保持3 min,再以15℃/min升至330℃,保持5 min。气相质谱参数:离子源温度250℃,电子能量为70 eV,质量扫描范围是30~500 m/z,采集速率每秒10个扫描,溶剂延迟300 s,检测器电压为1520 V。(iii) 数据处理:原始数据采用Chroma TOF软件(ver 4.51.6),用癸酸乙酯内标归一化后,根据所选特征离子的平均面积进行分析物的定量。

最终获取茶青香气代谢信号329个,样本缺失值均采用同一处理均值填充。将保留时间和质谱与标准品和公共数据库(Nist)进行匹配,以匹配相似度大于70%推断性定性,并结合部分已有标样鉴定出代谢产物。

1.3 茶青离子组分析

采用浓硫酸消解茶青,准确称取0.1 g茶叶粉末,加3 mL浓硫酸,充分摇匀后放入恒温消解炉,消解后静置放热,冷却定容。利用连续流动分析仪(SKALAR, Holland)测定氮、磷、钾等三种大量元素浓度;利用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS, Agilent)测定钙、镁、铝、锰、铁、锌、铜、硼、钼和钴等十种中微量元素浓度。

1.4 磷处理田间试验

试验地点位于福建省武夷山市星村镇燕子窠茶园(北纬27°39'13.9",东经117°55'17.2")。小区采用随机区组设计,氮肥与钾肥的施用量分别为:123.75 kg N/ha和123.75 kg K₂O/ha,设置高磷(high phosphorus, HP, 112.5 kg P₂O₅/ha)和低磷(low phosphorus, LP, 60 kg P₂O₅/ha)两个处理。试验于2019年底进行,沿茶树滴水线开沟(宽×深,20 cm×15 cm)条施冬肥,2020年4月底采收茶青(水仙)样品及对应0~20 cm的土壤样品,0.1 m²测产框内的全部“驻芽三叶”为一份样品,每个处理收获10个生物学重复样品。茶青样品进行香气代谢

组及磷浓度测定, 土壤样品自然风干7天, 研磨后过2 mm筛测定有效磷(Bray I浸提-钼锑抗比色法)^[20].

1.5 数据处理与分析

主要采用Graphpad Prism 8与R语言包进行数据处理和图片制作, 利用SPSS Statistics 19.0统计学软件对数据进行单因素方差分析及 T 检验, 采用邓肯(Duncan)多重比较分析. 香气挥发性代谢物采集的数据采用LECO-Chroma软件进行分析. 聚类分析(clustering analysis)、限制性主坐标轴分析(constrained principal coordinate analysis, CPGCoA)、冗余分析(redundancy analysis, RDA)和相关性分析(correlation analysis)使用R语言包GUniFrac, vegan, corrplot, plyr, ggrepel和rdacca.hp, 作图使用R语言包ggplot2. 加权相关性网络分析(weighted correlation network analysis, WGCNA)使用R语言包AnnotationDbi, impute, GO.db, preprocessCore, WGCNA, reshape2和stringr.

2 结果与分析

2.1 岩茶香气地域性差异的聚类分析

对来自350个不同地域茶园的茶青样本, 共计329个代谢信号进行样本聚类分析. 结果发现, 茶青样本可分为两大群, 分别为洲茶/半岩聚集群(I和II)和高山/正岩聚集群(III和IV), 其中以4,8-二甲基-1,7-壬二烯-4-醇、2H-吡喃-2-酮、苯乙酮、异植物醇、5-甲基呋喃醛、二氢猕猴桃内酯和2-甲基-4-萜烯醇等代谢物在两个集群间差异最大, 其相对含量在高山/正岩聚集群中显著高于洲茶/半岩聚集群; 不同修剪模式的聚类效果不明显(图2A). 按照VIP>1且 $P<0.05$ 的标准, 利用PLS-DA分别计算地域条件和修剪模式下, 每种代谢物的变量权重值(variable importance in the projection, VIP), 最终获得地域差异代谢物147个, 修剪差异代谢物128个, 共有的差异代谢物占总差异代谢物的38.19%. 对地域和修剪模式下的差异代谢物分别进行CPGCoA发现, 四个地域样点存在显著的分, 以高山与洲茶差异最大, 地域条件可以解释茶青香气总体变异的22.9%, 而修剪模式仅能解释4.75%(图2B和C). 以上结果表明, 茶青香气存在明显的地域差异, 岩茶(水仙)“地域香”确实存在; 并且地域对于茶青香气的影响显著高于修剪模式.

2.2 岩茶香气代谢物的差异性分析

对地域和修剪模式共同包含的199个差异香气代谢物进行加权相关性网络分析, 将具有协同变化趋势的代谢物进行聚类, 并划归为不同模块, 共获得六个差异代谢物模块, M1至M6模块分别包含48, 26, 25, 22, 14和62个代谢物(图3A). 将这六个差异模块分别与地域条件和修剪模式进行相关性分析, 结果发现, M1, M2, M4与地域条件的相关系数明显高于修剪模式(图3B), 进一步表明地域条件对岩茶香气差异代谢物的影响程度较大. 将与地域条件显著相关的M1, M2, M4和M6四个模块中包含的158个差异代谢物进行物质鉴定, 发现有89个为已知代谢物(网络版附表1), 主要富集到14条代谢通路上, 其中与己内酰胺降解、萘和蒽的降解、酮体的合成与降解、乙苯降解最为相关, 同时涉及苯丙素生物合成, 表明地域差异性可能主要出现在芳香族化合物(如乙苯、萘、蒽)的降解、酮类化合物的转化及苯丙素类化合物(如香豆素)的合成这些代谢途径上(图3C). 对这些差异代谢物的相对含量进行地域间比较分析发现, 香气代谢物在地域上的差异主要集中在醇类、醛类、酮类、酯类和碳氢化合物(图3D~I). 其中醇类与碳氢化合物在四个地域的含量变化趋势最显著, 醇类相对含量为高山(14.86%)>正岩(11.57%)>半岩(7.52%)>洲茶(6%), 呈依次递减趋势(图3D); 碳氢化合物变化趋势则与之相反, 相对含量为高山(31.27%)<正岩(35.02%)<半岩(49.24%)<洲茶(53.10%), 呈依次递增趋势(图3H). 高山岩茶(水仙)以醇类、醛类物质占比多, 多积累花香、果香的物质, 如(E)-6-甲基庚烯醇、L-薄荷醇、苯乙酮等; 而洲茶(水仙)则以碳氢化合物(烷烃、烯烃类)含量占比多, 例如癸烷、十六烷等具有化学气息的物质, 表明岩茶(水仙)的香气代谢途径和类别存在明显的地域差异.

2.3 矿质元素对香气代谢物地域性差异的影响

为进一步探究地域香气差异的关键矿质元素, 将筛选到的32个地域独有差异代谢物, 包括地域集群差异最大的2H-吡喃-2-酮、苯乙酮、2-甲基-4-萜烯醇等代谢物, 与茶青13种矿质元素进行冗余分析, 结果发现13种矿质元素对岩茶香气代谢物地域性差异的贡献程度为50.31%(图4A和B), 说明矿质元素对“地域香”的形成十分重要. 影响最大的依次为磷(20.11%)、锌

图 2 岩茶(水仙)茶青香气代谢物分析. A: 不同地域、不同修剪模式下的聚类分析; B和C: 不同地域(B)和不同修剪模式下(C)的限制性主坐标轴分析. n 代表样本数目

Figure 2 Analyses of aroma metabolites in rock tea leaves (Shuixian). A: Cluster analyses of leaves from different regions under different pruning treatments; B and C: CPCA of leaves from different regions (B) and under different pruning treatments (C). n indicates the number of samples

(12.29%)、钙(3.65%)、铁(3.38%)和钼(2.82%)等元素; 其中, 磷对香气代谢物地域性差异的影响最大, 占总贡献的39.97%(图4B). 此外, 高山和洲茶茶园土壤有效磷和茶青磷浓度差异显著, 高山茶青磷浓度(2.47 mg/g)和土壤有效磷含量(76.64 mg/kg)最低, 而洲茶茶青磷浓度(3.29 mg/g)和土壤有效磷含量(225.85 mg/kg)最高, 总体呈现洲茶>半岩>正岩>高山的趋势(图4D和E). 由此推测, 磷可能是影响岩茶(水仙)香气代谢物地域性差异的主要矿质营养元素, 磷过多会影响差异性香气代谢物的累积, 尤其以高山与洲茶的差异最大.

在对茶青磷浓度与地域差异最大的香气代谢物的相关性分析中, 发现磷与22个代谢物具有显著的相关性, 大部分呈显著负相关, 其中与AM117(3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮)、AM134(4,8-二甲基-1,7-壬二烯-4-醇)、AM28(6-甲基-5-庚烯-2-酮)和AM72(3-辛烯-2-醇)等代谢物具有较强的相关性($R^2 > 0.5$)(图4C). 在茶青磷浓度与关键香气代谢物的线性回归分析中, 最终发

现三种香气代谢物与磷浓度建立的线性回归模型, 具有较高的拟合程度($R^2 > 0.4$), 包括3-辛烯-2-醇(奶油香特征代谢物)、4,8-二甲基-1,7-壬二烯-4-醇(花果香特征代谢物)和3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮(檀木香特征代谢物)(图4F~H), 并且这三种关键香气代谢物的相对含量在高山、正岩、半岩和洲茶中, 呈显著的逐级递减趋势(图4I~K). 结果表明, 叶片中过高的磷浓度不利于岩茶(水仙)中这三种特征香气代谢物的积累.

2.4 磷有效性对岩茶关键香气代谢物的差异分析

为探究磷有效性对岩茶(水仙)香气的影响, 在武夷山茶园进行不同磷水平处理的田间施肥试验. 结果发现, 在HP处理下, 土壤有效磷和茶青磷浓度分别比LP处理增加了120.81 mg/kg和0.60 mg/g(图5A和B). 然而, 在高山水仙茶青中高积累的三种香气代谢物(3-辛烯-2-醇、4,8-二甲基-1,7-壬二烯-4-醇和3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮), 在HP处理下的峰面积显著低于LP处

图 3 岩茶(水仙)茶青香气代谢物的差异性分析。A: 层次聚类树分析; B: 代谢物模块与地域和修剪模式的相关性分析; C: 差异代谢物KEGG富集分析; D~I: 差异代谢物在不同地域的百分比积累变化。***: $P \leq 0.001$; 不同字母表示不同地域间差异显著 ($P \leq 0.05$)

Figure 3 Differential analyses of aroma metabolites in rock tea leaves (Shuixian). A: Hierarchical cluster tree analyses; B: correlation analyses of differential aroma metabolites modules in different regions under different pruning treatments; C: KEGG enrichment analyses of differential metabolites; D~I: accumulation percentage of regionally different aroma metabolites. ***: $P \leq 0.001$. Different letters indicate significant differences between different regions at 0.05 level

图 4 影响岩茶(水仙)茶青香气地域差异的关键矿质元素筛选。A: 不同地域香气差异代谢物冗余分析; B: 矿质元素对香气代谢物地域性差异的独立影响; C: 磷与关键香气代谢物的相关性分析; D和E: 不同地域的茶园土壤有效磷(D)和茶青磷浓度(E)差异分析; F~H: 茶青磷浓度与关键香气代谢物的线性回归分析; I~K: 不同地域关键香气代谢物的相对含量变化。不同字母表示不同地域间差异显著($P \leq 0.05$)。ns: 差异不显著; *: $0.01 < P \leq 0.05$; **: $0.001 < P \leq 0.01$; ***: $P \leq 0.001$

Figure 4 Screening of key mineral elements that cause regional differences in aroma metabolites in rock tea leaves (Shuixian). A: Redundancy analysis on differential aroma metabolites; B: independent effects of mineral elements on regional differences in aroma metabolites; C: correlation analysis of key aroma metabolites and phosphorus (P) concentration; D and E: available P concentration in soil (D) and leaf P concentration (E); F~H: linear regression analyses of leaf P concentration and key aroma metabolites; I~K: changes in relative contents of key aroma metabolites. Different letters indicate significant differences between different regions at 0.05 level. ns: not significant, *: $0.01 < P \leq 0.05$, **: $0.001 < P \leq 0.01$, ***: $P \leq 0.001$

理, 仅为LP的63.32%, 84.03%和64.50%(图5C~E)。由此可见, 大量施用磷肥会显著降低3-辛烯-2-醇、4,8-二

甲基-1,7-壬二烯-4-醇和3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮等优质香气代谢物的累积。这说明减少磷肥的施用更有

图 5 岩茶(水仙)磷处理田间试验. A: 土壤有效磷浓度; B: 茶青磷浓度; C~E: 关键香气代谢物峰面积. ns: 差异不显著; *: 0.01 < P ≤ 0.05; **: 0.001 < P ≤ 0.01; ***: P ≤ 0.001

Figure 5 Field evaluations of phosphorus (P) treatments in rock tea (Shuixian). A: Available P content in soil; B: leaf P concentration; C~E: peak areas of key aroma metabolites. ns: not significant, *: 0.01 < P ≤ 0.05, **: 0.001 < P ≤ 0.01, ***: P ≤ 0.001

利于岩茶(水仙)优质香气的形成.

3 讨论

3.1 武夷岩茶“地域香”确实存在

武夷岩茶独特的“岩骨花香”存在明显的地域性,实际上包括滋味和香气两方面的内容^[6].周志等人^[9]利用UPLC-Q-TOF-MS分析方法,揭示了岩茶(肉桂)滋味的地域性差异,表明了不同产地岩茶滋味的“岩韵”客观存在.本研究采用GC-TOF-MS分析方法,发现岩茶(水仙)香气也存在明显的地域性(图2A),证实了岩茶的“地域香”同样真实存在.高山/正岩(水仙)茶青中4,8-二甲基-1,7-壬二烯-4-醇、苯乙酮、异植物醇、5-甲基呋喃醛、二氢猕猴桃内酯和2-甲基-4-萜烯醇等代谢物的相对含量显著高于洲茶/半岩,这些代谢物可能影响岩茶(水仙)的香气品质.

岩茶香气除了受地域的显著影响,修剪方式也是影响茶青基础香气的重要因素^[22].茶叶香气代谢物的

含量和种类决定了茶香的强弱和香型.从茶叶中分离鉴定的香气成分达700多种,茶青中大约含有100余种^[23].茶叶中香气成分的含量虽少,却是决定茶叶品质的关键评价指标^[24].茶香受到多种因素的影响,如茶树品种^[25]、加工工艺^[26]、地域环境^[13]、栽培管理^[27]及外源胁迫^[28]等.岩茶中小乔木品种水仙在栽培管理中存在留高现象(不修剪),形成与其他灌木型茶树不同的品质特征,如木质香、青苔香和粽叶香等,其中以树龄超过60年未修剪的“老丛”水仙特征香气最显^[29],这表明水仙香气可能受修剪模式的影响较大.殷丽琼等人^[30]认为,修剪可以显著提升春茶烘青和晒青过程的香气,可能是由于改变了茶叶的代谢通路^[19].本研究通过比较地域条件与修剪模式对岩茶(水仙)茶香的影响,发现地域对于茶青香气的影响显著高于修剪模式,修剪模式对茶叶香气影响不大(图2B和C).究其原因,可能是地域条件对茶叶香气的影响为主效因素,削弱了修剪模式对香气的贡献.

在岩茶制作过程中,低沸点的挥发物容易损失,而

高沸点的挥发物往往能够在成品茶中保留下来^[31]. 在对不同产地茶叶香气的研究中, 董迹芬等人^[13]发现, 对香气起主要作用的挥发物主要包括烯类、醇类、醛类和酮类等, 烷烃类化合物对香气贡献不大. 本研究发现, 高山和正岩多积累对茶香贡献大的化合物, 主要包括醇类、醛类和酮类等(图3D~F), 而洲茶多积累对茶香贡献不大的碳氢化合物(图3H), 表明高山和正岩茶青的香气挥发物类别显著优于洲茶. 花香、果香及木香等香气是优质岩茶(水仙)的主要特征^[13,29], 本研究鉴定出了三种关键香气代谢物, 包括3-辛烯-2-醇、4,8-二甲基-1,7-壬二烯-4-醇和3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮, 分别为奶油香^[32]、花果香^[33]和檀木香^[34,35]的特征香气代谢物, 其相对含量呈现出明显的地域差异, 具体表现为高山>正岩>半岩>洲茶(图4I~K). 因此, 岩茶(水仙)的“地域香”可能是由香气代谢物的类别与关键特征代谢物的含量共同决定.

3.2 岩茶“地域香”与矿质养分密切相关

矿质养分是茶树结构物质的重要组成成分, 也是各种酶促代谢反应的关键辅因子, 因而茶叶香气代谢与矿质养分密不可分^[36]. 周志等人^[9]认为, 产地对岩茶(肉桂)“岩韵”的影响可能主要与土壤的养分条件有关, 而土壤养分除了天然的成土母质因素, 还包括人为的茶园管理因素. 在自然风化过程中, 不同母质的岩石层形成了不同类型的土壤, 为植物的生长提供各种元素, 包括微量元素铁、锰、锌等^[37]. 此外, 在实际生产过程中, 由于茶叶采摘带走大量养分, 所以通过施肥补给氮、磷、钾等大量矿质营养元素十分必要. 合理的施肥方式有利于茶叶产量和品质的提高^[38]. 袁祖丽等人^[39]在对绿茶的研究中, 提出氮肥施用量在300~400 kg/ha, 氮:磷:钾=3:1:1时可以增加 β -葡萄糖苷酶和 β -樱草糖苷酶的活性, 显著提升茶青中的有益香气; 孙威江等人^[40]研究发现, 乌龙茶的特征香气成分橙花叔醇与土壤中的全钾存在显著的正相关性. 离子组学是近年来兴起、用于全方位筛选关键调控元素的有效技术手段^[16]. 本研究对岩茶茶青的13种主要矿质元素进行了离子组分析, 发现矿质元素对香气代谢物的地域性差异影响十分显著, 总贡献为34.37%, 影响最大的依次为磷、锌、钙、锰和铁等元素(图4A和B). 其中, 磷的贡献最大, 占总贡献的1/3以上(39.39%)(图

4B), 并且与关键的香气代谢物呈负调控关系(图4C), 其中, 磷与3-辛烯-2-醇、4,8-二甲基-1,7-壬二烯-4-醇和3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮建立的线性回归模型具有较好拟合性(图4F~H). 薛俊鹏等人^[15]同样发现, 茶青中磷与岩茶(肉桂)品质存在一定的负相关. 因此, 岩茶(水仙)“地域香”与矿质养分密切相关, 其中磷可能是关键的矿质元素.

3.3 减少磷肥施用有利于改善岩茶“地域香”

磷参与茶树体内蛋白质、糖类和单宁类物质的合成与转化, 与茶叶品质息息相关^[41]. 为了满足日益增长的茶叶需求, 茶农主要通过施肥的方式来提高茶叶产量, 目前在乌龙茶区已经形成了较大的磷库^[10,38]. 然而, 乌龙茶茶青(包括岩茶水仙)的氮磷钾比例约为10:1:5, 对磷的需求并不高^[14]. 周志等人^[10]利用边际效应分析得出高品质岩茶茶园适宜的土壤养分范围, 其中有效磷在10~100 mg/kg范围内最适. 高磷与茶叶品质呈负相关, 并提出茶园管理要控制磷肥施用的措施. 本研究通过对岩茶香气代谢物和矿质元素分析发现, 高山岩茶的土壤有效磷浓度和茶青磷浓度最低, 而洲茶反之(图4D和E), 且磷含量与关键香气代谢物普遍呈显著负相关(图4C~K); 同时, 通过在茶园进行高低磷施肥试验发现, 低磷处理的土壤有效磷与茶青磷浓度显著低于高磷处理(图5A和B), 并且低磷显著提高关键代谢物的累积(图5C~E), 减少磷肥施用有利于改善岩茶“地域香”. 从进化角度考虑低磷促进茶青香气代谢物的累积这一现象, 可能是由于茶树对环境的长期适应形成的. 茶树长期适应于酸性土壤^[42], 而酸性土壤的有效磷含量低^[43], 茶树可能通过促进次生代谢物的合成以适应低磷环境.

4 结论

本研究通过代谢组学结合离子组学的大数据分析, 发现岩茶(水仙)挥发性代谢物在地域间存在显著的差异, 证实岩茶确实具有“地域香”; 磷是调控岩茶香气地域性差异的关键矿质元素, 过量施用磷肥会显著抑制岩茶(水仙)优质香气代谢物的累积. 研究结果为水仙品质改良及茶园科学施肥管理提供了理论依据.

参考文献

- 1 Xia E H, Zhang H B, Sheng J, et al. The tea tree genome provides insights into tea flavor and independent evolution of caffeine biosynthesis. *Mol Plant*, 2017, 10: 866–877
- 2 Drew L. The growth of tea. *Nature*, 2019, 566: S2–S4
- 3 Chen Y L, Duan J, Jiang Y M, et al. Production, quality, and biological effects of oolong tea (*Camellia sinensis*). *Food Rev Int*, 2011, 27: 1–15
- 4 Huang X G. Textual research on the origin of oolong tea in Wuyi mountain and its impact on tea culture (in Chinese). *Tea Fujian*, 2002, 3: 45–46 [黄贤庚. 乌龙茶发源于武夷山的考证及其对茶文化的影响. *福建茶叶*, 2002, 3: 45–46]
- 5 Gong Z. Chayun and Yanyun (in Chinese). *China Tea*, 2011, 33: 38–39 [巩志. 茶韵与岩韵. *中国茶叶*, 2011, 33: 38–39]
- 6 Chen H K, Yang J F. Research progress in quality being of Wuyi rock tea in different areas (in Chinese). *J Food Safe Qual*, 2016, 7: 257–262 [陈华葵, 杨江帆. 武夷岩茶不同岩区品质形成研究进展. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7: 257–262]
- 7 Zhou J, Cheng H, Wang L Y, et al. Recognition of Wuyi Zheng Yan tea with PLS-DA based on leverage correction using near infrared spectra (in Chinese). *J Tea Sci*, 2009, 29: 34–40 [周健, 成浩, 王丽鸳, 等. 基于杠杆率校正的PLS-DA法对正半岩武夷岩茶的识别研究. *茶叶科学*, 2009, 29: 34–40]
- 8 Wang L Y, Cheng H, Zhou J, et al. Discriminant classification of Wuyi Yan tea based on multiple chemical fingerprint (in Chinese). *J Tea Sci*, 2010, 30: 83–88 [王丽鸳, 成浩, 周健, 等. 基于多元化学指纹图谱的武夷岩茶身份判别研究. *茶叶科学*, 2010, 30: 83–88]
- 9 Zhou Z, Xue J P, Zhuo Z P, et al. Unique region produces special tea: metabolomic basis of the influence of production region on the quality of Wuyi rock tea (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2019, 49: 1013–1023 [周志, 薛俊鹏, 卓座品, 等. 一方水土养一方茶: 产地影响武夷岩茶品质的代谢组基础. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49: 1013–1023]
- 10 Zhou Z, Liu Y, Zhang L M, et al. Soil nutrient status in Wuyi tea region and its effects on tea quality-related constituents (in Chinese). *Sci Agric Sin*, 2019, 52: 1425–1434 [周志, 刘扬, 张黎明, 等. 武夷茶区茶园土壤养分状况及其对茶叶品质成分的影响. *中国农业科学*, 2019, 52: 1425–1434]
- 11 Zhou P, Hu O, Fu H, et al. UPLC-Q-TOF/MS-based untargeted metabolomics coupled with chemometrics approach for Tieguanyin tea with seasonal and year variations. *Food Chem*, 2019, 283: 73–82
- 12 Guo X, Ho C T, Wan X, et al. Changes of volatile compounds and odor profiles in Wuyi rock tea during processing. *Food Chem*, 2021, 341: 128230
- 13 Dong J F, Bian J L, Zhu Q W, et al. Relationship between tea aroma and soil conditions (in Chinese). *J Zhejiang Univ (Agric Life Sci)*, 2013, 39: 309–317 [董迹芬, 边金霖, 朱全武, 等. 茶叶香气与产地土壤条件的关系. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2013, 39: 309–317]
- 14 Sun L, Liu Y, Wu L, et al. Comprehensive analysis revealed the close relationship between N/P/K status and secondary metabolites in tea leaves. *ACS Omega*, 2019, 4: 176–184
- 15 Xue J P, Zhuo Z P, Liu Y, et al. Variation of Wuyi rock tea in mineral nutrition with region and its affecting factors (in Chinese). *Acta Pedol Sin*, 2021 [薛俊鹏, 卓座品, 刘扬, 等. 武夷岩茶中矿质养分的地域性差异及影响因素. *土壤学报*, 2021]
- 16 Huang X Y, Salt D E. Plant ionomics: from elemental profiling to environmental adaptation. *Mol Plant*, 2016, 9: 787–797
- 17 GB/T 23776—2018, Methods of sensory evaluation of tea (in Chinese). Beijing: China Standard Press, 2018 [GB/T 23776—2018, 茶叶感官审评方法. 北京: 中国标准出版社, 2018]
- 18 Chen D H, Chen H, Liu B S, et al. The dominant variety of Wuyi rock tea—Shuixian (in Chinese). *Tea Fujian*, 2011, 33: 39–43 [陈德华, 陈桦, 刘宝顺, 等. 武夷岩茶当家品种—水仙. *福建茶叶*, 2011, 33: 39–43]
- 19 Rubel Mozumder N H M, Hwang K H, Lee M S, et al. Metabolomic understanding of the difference between unpruning and pruning cultivation of tea (*Camellia sinensis*) plants. *Food Res Int*, 2021, 140: 109978
- 20 Bao S D. Soil Agro-Chemistrical Analysis (in Chinese). 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2007 [鲍士旦. 土壤农化分析. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 2007]
- 21 Chen S, Liu H, Zhao X, et al. Non-targeted metabolomics analysis reveals dynamic changes of volatile and non-volatile metabolites during oolong tea manufacture. *Food Res Int*, 2020, 128: 108778
- 22 Chen Z Z, Zhang L, Wu M Y, et al. Effects of different dwarfing and pruning techniques on the yield and quality of Tie-guanyin (in Chinese). *Tea Sci Technol*, 2012, 3: 9–12 [陈芝芝, 张磊, 吴民亿, 等. 不同矮化修剪技术对铁观音产量和品质的影响. *茶叶科学技术*, 2012, 3: 9–12]
- 23 Zhang W T, Zhang L Z, Wang D L. Research progress on the effect of oolong tea processing technology on aroma components (in Chinese).

- Guangdong Tea Ind, 2010, 1: 21–27 [张婉婷, 张灵枝, 王登良. 乌龙茶加工工艺对香气成分影响的研究进展. 广东茶业, 2010, 1: 21–27]
- 24 Guo Y L. Sensory evaluation of Wuyi rock tea quality (in Chinese). *Tea Fujian*, 2011, 33: 45–47 [郭雅玲. 武夷岩茶品质的感官审评. 福建茶叶, 2011, 33: 45–47]
- 25 Mao Z F, Liu Z A, Li Q, et al. Study on the changes of aroma substances in different varieties of tea during ZuoQing (in Chinese). *China Tea Proc*, 2009, 1: 20–23 [毛志方, 刘宗岸, 李强, 等. 不同品种茶叶做青过程中香气物质的变化研究. 中国茶叶加工, 2009, 1: 20–23]
- 26 Zhang L, Yang R X, Chen Z Z, et al. Effect of tea processing techniques on aromatic components of Mingke 1 (in Chinese). *Fujian J Agric Sci*, 2013, 28: 1257–1262 [张磊, 杨如兴, 陈芝芝, 等. 不同茶类加工工艺对茗科1号香气成分的影响. 福建农业学报, 2013, 28: 1257–1262]
- 27 Jin S, Yu Y B, Zhang X Y, et al. Influence of greenhouse on the quality of green tea (in Chinese). *Chin Agric Sci Bull*, 2009, 25: 261–267 [金珊, 余有本, 张秀云, 等. 设施栽培对绿茶品质的影响. 中国农学通报, 2009, 25: 261–267]
- 28 Cao P R, Liu C Y, Liu K B, et al. Aromatic constituents in fresh leaves of Lingtong dancong tea as induced by drought stress (in Chinese). *J South China Agric Univ*, 2006, 27: 17–20 [曹潘荣, 刘春燕, 刘克斌, 等. 水分胁迫诱导岭头单枞茶香气的形成研究. 华南农业大学学报, 2006, 27: 17–20]
- 29 Chen R B. On the “fir flavor” of Wuyi Shuixian (in Chinese). *Tea Cerem*, 2020, 2: 96–97 [陈荣冰. 关于武夷水仙的“枞味”. 茶道, 2020, 2: 96–97]
- 30 Yin L Q, Xiao X, Liu D H, et al. Effect of light pruning in different period on tea yield and quality of Yunnan big leaf varieties (in Chinese). *Southwest China J Agric Sci*, 2019, 32: 94–98 [殷丽琼, 肖星, 刘德和, 等. 不同时期的轻修剪对云南大叶种茶叶产量及品质的影响. 西南农业学报, 2019, 32: 94–98]
- 31 Liang J, Xu H R, Jiang W L, et al. Effect of various temperatures on tea aroma (in Chinese). *J Tea*, 2002, 28: 194–196 [梁靖, 须海荣, 蒋文莉, 等. 温度对茶叶香气的影响. 茶叶, 2002, 28: 194–196]
- 32 Zhang P Y, He X M, Jin Q Z. Study on the synthesis of trans-3-octen-2-ol (in Chinese). *Chem World*, 2007, 48: 30–33 [章平毅, 何锡敏, 金其璋. 食用香料反式-3-辛烯-2-醇的合成研究. 化学世界, 2007, 48: 30–33]
- 33 S-Rudnar, R-Pelzer, W-Claus, et al. The use of 4,8-dimethyl-3,7-nonadien-2-ol as a fragrance (in Chinese). C07C33/02. CN201480005927.2. 2015, 1–19 [S-鲁德纳尔, R-派尔泽, W-克劳斯, 等. 4,8-二甲基-3,7-壬二烯-2-醇作为芳香剂的用途. C07C33/02. CN201480005927.2. 2015, 1–19]
- 34 Wang F S, Wen Y, Zhao P F, et al. Analyse of the fragrance of *Vetiveria zizanioides* oil (in Chinese). *Nat Prod Res Dev*, 2009, 21: 980–983 [王飞生, 文媛, 赵鹏飞, 等. 香根草油香气成分分析. 天然产物研究与开发, 2009, 21: 980–983]
- 35 Peng Y, Cai W N, Xiao S H, et al. Study on chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of *Vetiveria zizanioides* oil (in Chinese). *Food Ind*, 2017, 38: 167–170 [彭燕, 蔡文凝, 肖生鸿, 等. 香根草油的化学成分及抗氧化, 抑菌活性研究. 食品工业, 2017, 38: 167–170]
- 36 Wang L, Lin Z, Lv H P, et al. Research progress in affecting factors of tea aroma (in Chinese). *Food Sci*, 2010, 15: 300–305 [王力, 林智, 吕海鹏, 等. 茶叶香气影响因子的研究进展. 食品科学, 2010, 15: 300–305]
- 37 Yang J L, Zhang G L, Huang L M. Rock weathering and soil formation rates of a forested watershed in the typical subtropical granite area (in Chinese). *Acta Pedol Sin*, 2013, 50: 253–259 [杨金玲, 张甘霖, 黄来明. 典型亚热带花岗岩地区森林流域岩石风化和土壤形成速率研究. 土壤学报, 2013, 50: 253–259]
- 38 Liu Y, Sun L L, Liao H. Effects of nutrient management on soil fertility and tea quality in Anxi tea plantation (in Chinese). *Acta Pedol Sin*, 2020, 57: 917–927 [刘扬, 孙丽莉, 廖红. 养分管理对安溪茶园土壤肥力及茶叶品质的影响. 土壤学报, 2020, 57: 917–927]
- 39 Yuan Z L, Li Y Z, Han Y, et al. Effects of different nitrogen amounts and nitrogen, phosphorus and potassium combination on the aroma components and its formation in tea shoots (in Chinese). *J Henan Agric Univ*, 2012, 46: 631–636 [袁祖丽, 李蕴贞, 韩莹, 等. 不同施氮量及定量氮、磷、钾配比对茶叶香气成分及其形成的影响. 河南农业大学学报, 2012, 46: 631–636]
- 40 Sun W J, Chen Q B. Effects of soil chemical environment and nutrient elements in fresh leaves on aroma components of Wuyi rock tea (in Chinese). In: *The Second Cross-strait Tea Industry Exposition and International Tea Industry Summit Forum. The Second Cross-Strait Tea Industry Exposition and International Tea Industry Summit Forum. Wuyishan. 2006. 246–253* [孙威江, 陈泉宾. 土壤化学环境及鲜叶营养元素对武夷岩茶香气成分的影响. 第二届海峡两岸茶业学术研讨会论文集. 第二届海峡两岸茶业博览会暨国际茶业高峰论坛. 武夷山. 2006. 246–253]
- 41 Lin Z H, Qi Y P, Chen R B, et al. Effects of phosphorus supply on the quality of green tea. *Food Chem*, 2012, 130: 908–914
- 42 Sun L, Zhang M, Liu X, et al. Aluminium is essential for root growth and development of tea plants (*Camellia sinensis*). *J Integr Plant Biol*, 2020, 62: 984–997
- 43 Raghothama K G. Phosphate acquisition. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999, 50: 665–693

Scent of tea: metabonomic and ionomic basis of regional aroma of Wuyi rock tea

LIU Yang¹, ZHUO ZuoPin¹, SHI Chen¹, LIU Bei¹, XUE JunPeng¹, LIANG LiNi¹, WANG Yu¹, XU RuiNeng^{1,2}, LIU BaoShun², XU MaoXing², YE JiangHua², SUN LiLi^{1,2} & LIAO Hong^{1,2}

1 Root Biology Center, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2 Wuyi Mountain Tea Industry Research Institute, Wuyishan 354303, China

Rock tea produced in different regions has its unique aroma, commonly known as “regional aroma”, lacking scientific evidence and influencing factors. In this study, 350 tea plantations were randomly selected from four rock tea-producing regions in Wuyi Mountain, and 3,500 tea samples and 900 soil samples were collected, respectively. The aroma metabolites in tea leaves were determined by GC-TOF-MS, and 329 metabolic signals were analyzed by cluster analysis. From the results, the aroma metabolites could be divided into two branches according to producing regions: the samples from Gaoshan and Zhengyan regions, and others from the Banyan and Zhou tea regions, demonstrating the existence of the “regional aroma”. The concentration of 13 elements in tea leaves was determined by ICP-MS. Based on redundancy and correlation analyses, phosphorus (P) was the key element affecting the “regional aroma” of rock tea. The soil available P content and leaf P concentration of the Gaoshan samples rich in “regional aroma” were significantly lower than those from Zhou tea. Three key metabolites affected by P were screened by linear regression analysis. Field experiments showed that the relative contents of these three key aroma metabolites were significantly reduced by high P supply. Thus, this study revealed the regional differences in the aroma of rock tea and discovered that P was a key element that affected the “regional aroma”. The results could provide a scientific basis for improving the aroma quality of rock tea through nutrient management.

Wuyi rock tea, aroma, metabonomics, ionomics, region

doi: [10.1360/SSV-2021-0140](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0140)