

代谢组学在茶树研究中的应用进展

曾超珍^{1,2,3}, 刘仲华^{2,3,*}, 刘志祥¹, 林海燕^{2,3}

¹中南林业科技大学生命科学与技术学院, 长沙410004; ²湖南农业大学茶学教育部重点实验室, 长沙410128; ³国家植物功能成分利用工程技术研究中心, 长沙410128

摘要: 代谢组学是系统生物学的一个重要分支, 它同时检测生物体系大量的内源性代谢物, 从代谢水平上研究其变化差异, 对进一步了解代谢网络和新功能基因的发掘具有重要作用, 已被广泛应用于多个研究领域。目前, 在茶树(*Camellia sinensis*)上代谢组学主要用于研究原料采摘部位、发育阶段、季节和环境因子、产地、加工等因素对茶叶化学成分和品质的影响。本文综述了代谢组学在茶树研究中的应用进展并作出了展望, 为其进一步应用提供参考。

关键词: 代谢组学; 茶树; 组学

代谢组学(metabolomics或metabonomics)是继基因组学、转录组学及蛋白组学之后, 于20世纪90年代出现的另一种新兴的系统生物学研究方法(Krastanov 2010; Nicholson等2002)。它应用现代分析手段对代谢过程中所有分子量小于1 kDa的代谢产物进行定性与定量分析, 反映生物体系(生物体、细胞或组织)受外界的刺激或基因变异时的代谢产物变化情况, 从而揭示其生命活动规律与调节机制(赵维薇等2011)。代谢组学的研究能更加系统、准确、直观地反映生物体系在不同环境中的变化, 在新药研发(Wishart 2008; Wishart等2008)、疾病诊断(Wishart等2009)、转基因作物分析(Barros等2010; Chang等2012)、食品营养与安全(Xu等2011)等很多领域中得到了广泛应用。

代谢物检测方法主要是质谱(mass spectrometry, MS) (Verdonk等2003)、核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR) (Holmes等2000; 董继扬等2011)、高效液相色谱(high-performance liquid chromatography, HPLC) (林艳萍等2007)、傅立叶变换红外光谱(Fourier-transform infrared spectroscopy, FTIR) (Harrigan等2004)、色谱/质谱/核磁共振联用(LC/MS/NMR) (Sun等2012; 吴宏伟等2013)技术等, 目前植物代谢组学主要采用MS和NMR两大分析平台。由于植物固着生长, 面对多变的环境其本身会形成一系列复杂的代谢调控系统来弥补这一缺陷(Fernie和Schauer 2009)。相对动物和微生物而言, 植物代谢产物种类繁多, 目前已知的植物代谢产物超过20万种, 仅拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的代谢产物(包括初生和次生代谢物)估计就超过了5 000种, 而动物的代谢物仅有2 500种左右, 微生物的代谢物仅为1 500种左右(Dixon和Strack 2003)。

植物代谢产物数量如此之多, 也给相关的科学研究带来了一定的困难(Bino 2004; Facchini等2004; von Roepenack-Lahaye等2004)。植物代谢组检测方法从最初的靶向代谢组分析与非靶向代谢组分析已经扩展为广泛靶向的代谢组分析, 能一次定量检测上千种代谢物, 适合高通量、广覆盖地分析大量样本, 能全面、准确、有效地比较样本间的代谢物质差异, 综合解析差异代谢物的代谢途径(Chen等2013; Sawada等2009)。植物代谢组学已广泛应用于植物多方面的研究中, 例如代谢表型差异研究、植物逆境胁迫的研究、转基因植物的安全性评价、植物基因功能鉴定等方面。

近年来, 代谢组学在茶树[*Camellia sinensis* (L.) Kuntze]研究中的应用越来越受到关注。本文主要介绍代谢组学在茶树研究中的应用及其存在的问题与展望, 旨在为其进一步应用提供参考。

目前, 代谢组学在茶树研究中的应用集中于研究原料采摘部位、发育阶段、季节和环境因子、产地、加工等因素对茶叶成分和品质的影响。

1 采摘部位和发育阶段对茶叶品质的影响

许多研究表明, 不同采摘部位、不同发育阶段会影响茶树化学成分的代谢途径, 同时也会对茶叶的品质产生很大的影响。Lee等(2011b)通过核磁共振氢谱(¹H NMR)结合多元统计分析研究了茶树(*C. sinensis* var. *Yakukita*)新梢上不同部位鲜叶的代谢, 发现从新叶到老叶存在明显的代谢差异,

收稿 2017-06-05 修定 2017-09-11

资助 湖南省科技计划(重点研发)项目(2016NK2150)、湖南省作物种质创新与资源利用重点实验室开放基金项目(16KFXM05)和湖南省自然科学基金(2017JJ3104)。

* 通讯作者(E-mail: larkin-liu@163.com)。

随着新叶变老,茶氨酸(theanine)、咖啡因(caffeine)、没食子酸(gallic acid)含量增加,而儿茶素(catechin)、葡萄糖(glucose)、蔗糖(sucrose)含量降低,揭示了茶树新梢生长过程中茶氨酸和儿茶素存在负相关,同时还发现新梢中茎具有高茶氨酸含量和低儿茶素含量的特点。Zhu等(2017)运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, UHPLC/Q-TOF-MS)技术对茶叶绒毛进行非靶向代谢组分析,共鉴定出114种化学成分,和无绒毛的茶叶相比较,其具有较高的氨基酸含量,较低的茶多酚含量,具有高鲜味低苦涩味的特点。Feng等(2014)对4种白化茶(‘安吉白茶’、‘黄金芽’、‘天台黄茶’、‘郁金香’)和一种绿叶茶(‘福鼎大白茶’)的差异代谢物进行分析,发现白化茶与绿叶茶相比具有较低的叶绿素、类胡萝卜素、咖啡碱、儿茶素的含量,较高的叶绿素 a/b 和玉米黄素、氨基酸(包括茶氨酸)含量;高氨基酸含量与低叶绿素、儿茶素、咖啡因含量主导了白化茶低苦涩味高鲜爽味品质的形成。李春芳(2016)利用气相色谱/质谱(gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS)联用技术对‘白叶1号’不同叶色时期(黄绿期、白化前期、白化后期、绿期)的叶片进行代谢组分析,得出绿期与白化的各个时期代谢谱差异显著,随着茶树新梢的生长时期及其叶色的不断改变,叶片中的氨基酸、脂肪酸、有机酸、糖类及其衍生物在4个不同时期的含量差异显著。曾超珍(2016)利用超高效液相色谱电喷雾(electrospray ionization)四级杆飞行时间串联质谱(UHPLC/ESI-Q-TOF-MS/MS)在正负离子模式下对‘安吉白茶’不同发育时期(白化前期、白化期、复绿期)的新梢叶片进行代谢组学分析,结果表明:白化期与白化前期、复绿期的代谢谱差异显著,‘安吉白茶’新梢叶片中的氨基酸、儿茶素、黄酮类、有机酸、糖类化合物等代谢物质及其衍生物在3个不同时期的含量差异显著。在白化期,氨基酸总量和茶氨酸含量显著提高,大多数儿茶素和黄酮醇(苷)类化合物及其衍生物含量显著下降。Jeon等(2017)利用GC/MS方法对3个不同生长阶段(40、60、90 d)的新鲜茶树叶片进行差异代谢物分析,鉴定出159种挥发性物质,其含量在60 d时最高;HPLC技术测

定茶叶中儿茶素、咖啡碱、茶氨酸的含量,发现在3个不同生长阶段儿茶素的含量不断升高,而咖啡碱含量在40和60 d高于90 d。

2 季节和环境因子变化对茶叶品质的影响

季节和环境因子(遮荫、光照、温度)变化下的茶树代谢产物有很大的差异,对茶叶品质造成很大的影响。Lee等(2010)采用 ^1H NMR分析济州岛3个不同地区茶树的代谢组差异,以研究气候和地理条件对茶树新梢代谢的影响,发现生长在相对高温、长日照、高降水量环境的茶树茶氨酸含量相对较高,而异亮氨酸(isoleucine)、亮氨酸(leucine)、缬氨酸(valine)、丙氨酸(alanine)、表儿茶素(epicatechin, EC)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)含量相对较低,说明春季高温、长日照、高降水量刺激茶树茶氨酸的合成。Xu等(2012)利用代谢组学与有监督模式识别方法,即 k -最近邻法(k -nearest neighbors algorithm, k -NN)和线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)相结合预测茶叶生产的季节(春季或夏季)。韩国研究者用UHPLC/Q-TOF-MS技术对不同采收季节(4月~8月)的茶叶次生代谢物的变化规律进行研究,共鉴定出31种次生代谢物质,其中两种没食子单宁、3种黄烷-3-醇、两种黄酮醇、两种茶黄素的含量发生了显著变化,随着采收季节的推迟,黄酮醇和茶黄素的含量不断上升,而没食子单宁和黄烷-3-醇的含量逐渐下降(Ryu等2017)。

Ku等(2010a)采用LC/MS和GC/MS技术分析遮荫对茶树代谢的影响,经主成分分析和正交偏最小方差判别分析,发现经过80%遮荫10 d的茶叶中没食子儿茶素(gallocatechin)、木麻黄素(strictinin)、apigenin glucosyl-arabinoside、quercetin p -coumaroyl-glucosyl-rhamnosyl-galactoside、kaempferol p -coumaroyl-glucosyl-rhamnosyl-galactoside、苹果酸(malic acid)、焦谷氨酸(pyroglutamic acid)含量升高,而没食子酰奎宁酸(galloylquinic acid)、EGC、EC、琥珀酸(succinic acid)、果糖(fructose)含量降低,同时还发现不遮荫时具有较高的总酚类和总黄酮类含量,因而具有更强的抗氧化活性,说明通过遮荫栽培可以生产高鲜味(umami)低涩味(astringent)茶叶。郝亚利(2010)以‘龙井43’为实验

材料, 基于GC/MS的代谢组技术分析不同光质处理的茶鲜叶(不同生育期)对品质形成的影响, 并运用HPLC结合荧光、紫外检测的方法, 分析不同生育期茶鲜叶中氨基酸、儿茶素、生物碱、黄酮组分及其含量的动态变化。Shen等(2015)利用GC/MS技术结合多变量统计分析对冬季茶树(自然条件和温室大棚)进行代谢谱分析, 得出在自然条件下其棉子糖、麦芽糖、葡萄糖、果糖的含量较高; 在温室大棚条件下, 亮氨酸、缬氨酸、苏氨酸、丙氨酸的含量较高(除11月16日以外), 此外柠檬酸、延胡索酸、苹果酸含量也较高。结果表明, 不同的低温条件以不同的方式改变茶树的代谢途径, 对茶树代谢物的影响存在显著差异。

3 不同产地对茶叶品质的影响

代谢组学作为一种高通量检测与数据多元统计分析相结合的方法, 能用于分析不同产地对茶叶品质成分的影响。李万春(2012)利用GC/MS技术对福建省安溪县境内8个乡镇的铁观音茶进行代谢组学分析发现, 不同乡镇的茶叶代谢表型存在明显的差异, 而相邻乡镇的茶叶代谢表型相似。郑起帆(2016)以4个不同产地的普洱生茶为研究对象, 采用¹H NMR代谢指纹图谱方法对其水溶性成分进行代谢物差异分析, 得出显著差异代谢物主要包括缬氨酸、苏氨酸、绿原酸、没食子酸酯等。景进(2016)利用代谢指纹图谱方法建立扁形茶品质预测和等级判别模型, 结果发现, 不同产地的扁形茶与其品质没有明显的相关性, 其原因是扁形茶中含量较高的化合物(儿茶素及其聚合物、氨基酸、植物碱、茶黄素等)是影响品质的主要因素, 而不同产地间的扁形茶所形成的特征化合物主要是茶叶中含量较低的化合物(黄酮类、多糖类、肽类等)。

4 加工工艺对茶叶品质的影响

茶树种质资源丰富, 品种繁多, 不同品种或同一品种的茶树采用不同加工工艺生产的茶叶品质差异较大。Lee等(2011a)采用¹H NMR分析了绿茶、部分发酵茶和完全发酵茶的代谢组差异, 通过主成分分析发现13种代谢物(EC、没食子儿茶素、EGC、EGCG、茶氨酸、丙氨酸、乙酸、奎尼酸、谷氨酸、咖啡因、蔗糖、葡萄糖、没食子酸)在绿茶和发酵茶之间存在差异, 在茶叶发酵过

程中EC、没食子儿茶素、EGC、EGCG、奎尼酸、谷氨酸、咖啡因、蔗糖含量下降, 而没食子酸、葡萄糖含量上升。Lee等(2015)对来自中国、日本、韩国的284个茶样(包括白茶、绿茶、乌龙茶)采用¹H NMR的方法进行非靶向代谢组分析, 发现环境因素与白茶、绿茶、乌龙茶的代谢组具有较强的相关性。此外, 运用多元统计分析揭示了白茶和绿茶叶片茶氨酸和儿茶素衍生物的相互关联。Dai等(2017)用UHPLC/Q-TOF-MS技术对白茶、绿茶、红茶特征代谢物进行非靶向代谢组综合分析, 发现3个样品的差异显著代谢物主要是氨基酸、儿茶素及其二聚物、黄酮醇、黄酮苷和风味前体物质。

Ku等(2010b)采用LC/MS分析普洱茶组分及其在后发酵(postfermentation)期间的变化, 研究发现普洱茶生茶较熟茶含有更多抗氧化物质, 抗氧化实验也表明生茶具有更强的抗氧化活性, 表明代谢组学方法是研究普洱茶制作工艺、后发酵时间和抗氧化活性的有力工具。Fraser等(2014)通过LC/MS分析了3个不同收获时期(春、夏、秋季)的乌龙茶做青阶段36 h内不同时间段的化学成分, 通过主成分分析的模型揭示了整个做青过程的主要成分变化情况。Xu等(2015)运用LC/MS对茯砖茶发酵过程代谢组学进行分析, 发现茯砖茶在微生物发酵过程中影响其品质的重要代谢物产生很大的变化, 其中包括咖啡因、儿茶素、没食子酸等, 表明非靶向代谢组学方法能够快速对茶叶在加工过程进行质量监控。Tan等(2016)利用UHPLC/Q-TOF-MS技术对不同发酵时间(0、1、2、4、6、8、10、12、14 h)的黑茶进行代谢组分析, 结果表明发酵过程中黑茶代谢物在逐步变化, 共鉴定出61种代谢物, 包括儿茶素及其二聚物、黄酮醇苷、氨基酸、酚酸、生物碱、核苷等, 这些代谢物的相对含量在酚类代谢合成途径中发生了显著的变化。

一些学者在对不同品质的茶叶进行代谢组分分析的基础上建立了用于预测茶叶品质的模型。例如, Eiichiro Fukusaki研究组利用GC/MS、¹H NMR、UHPLC/TOF-MS和气相色谱-火焰离子化监测器(gas chromatography/flame ionization detector, GC/FID)等方法对不同等级的绿茶进行代谢组分

析, 结合几种检测方法的结果, 根据成分差异对不同品质的绿茶进行归类, 并建立了可预测绿茶品质的偏最小二乘判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)模型(Jumtee等2009; Pongsuwan等2008; Tarachiwin等2007; Pongsuwan等2007)。Xu等(2011)采用FTIR与化学计量学多元校正法相结合, 建立了区分未发酵沱茶和发酵沱茶类型的模型, 并进一步建立了预测沱茶年份的模型。

4 问题与展望

我国茶树种质资源丰富, 种植范围广泛, 品种繁多, 对茶树的研究方向涵括范围广。目前, 基于MS、NMR等技术的代谢组学在茶树中的应用越来越广泛, 主要集中在不同的品种、部位、遮荫、光照条件等因素所引起的茶树代谢物质种类与含量的差异, 并取得可观的成果, 但仍然存在一些问题, 有待进一步解决和改进:

(1) 多种代谢物检测技术(如LC/MS、GC/MS、NMR等)相结合应用于茶树的研究较少, 但在一些植物的研究中已经取得很大的成果, 如Safer等(2011)将¹H NMR和HPLC/ESI-MS/MS相结合对菊科火绒草属(*Leontopodium*)植物进行代谢指纹分析, 结合两种方法的数据分析得出, 它们能够在物种分类上提供一些有用的信息。Huang等(2008)将GC/MS与LC/MS方法结合对缺磷状态下的大麦(*Hordeum vulgare*)芽和根进行代谢指纹图谱分析, 结果发现一些酸类中间体和有机酸类的含量显著下降, 二糖和三糖的含量显著升高。通过综合分析揭示植物抵御营养胁迫(缺磷)是通过两种途径来实现的: ①对糖代谢进行调节来降低对磷的消耗; ②通过回收一些含磷的小分子代谢物质中的磷以抵御缺磷的营养胁迫。因此, 同一个茶树样品同时利用多种检测分析技术进行代谢物定性定量分析, 也将会获取更加准确、全面的数据, 发掘更多潜在的有价值的信息。

(2) 将代谢组学与其他“组学”(基因组学、转录组学、蛋白组学)进行整合, 以发掘茶树某些机理(品质形成机理、代谢及其调控机制)的研究还比较少, 但在植物中的研究却越来越广泛。如Morreel等(2006)运用代谢组学与基因组学结合分析杨树(*Populus deltoides* cv. S9-2 × *P. nigra* cv. Ghoy

和*P. deltoides* cv. S9-2 × *P. trichocarpa* cv. V24)的15种黄酮类化合物合成途径, 同时通过数量性状基因座(quantitative trait loci, QTL)分析鉴定了黄酮类化合物合成途径中的关键基因。Tohge等(2005)用基于LC/MS的代谢组学和转录组学整合分析过表达*PAP1*基因的拟南芥, 鉴定出涉及类黄酮生物合成的基因并分析了该途径中新发现基因的功能。Winzer等(2012)对罂粟(*Papaver somniferum*)进行靶向代谢组学与转录组学的关联分析, 发现了一个参与吗啡合成的基因簇, 它是由属于5个酶家族的10个基因所组成, 其中6个基因的功能被鉴定。Sarry等(2006)利用代谢组学和蛋白质组学相结合技术分析拟南芥细胞对镉(不同的时间点)的反应, 揭示了镉对拟南芥细胞代谢物影响的物质是6个不同家族的植物蛋白相关复合物。Ferrario-Mery等(2002)整合转录组学、代谢组学及酶学方面的数据, 研究了烟草(*Nicotiana tabacum*)中碳氮代谢的相互影响。运用代谢组学对烟草叶片NH₄代谢过程的主要代谢物质进行定量分析, 并结合有关氮在转录层面的结果, 发现代谢物质的变化与谷氨酰胺合成酶基因的转录后修饰调节相关, 而与该基因的转录水平无关。如果对4种“组学”进行“技术融合”, 将代谢组学与基因组学、转录组学、蛋白组学等高通量的数据整合起来, 应用于分析环境因素、原料采摘部位和季节等对茶叶品质的影响, 并探讨其调控机制, 将能提供大量有用的信息。

(3) 代谢组学方法分析茶树中的代谢物包含大量的信息和数据, 为了对其进行更好的分析, 挖掘茶树潜在有价值的信息, 还必须不断丰富茶树代谢组相关数据库并开发数据分析新技术, 以将代谢组学更广泛深入地应用于茶树的品质形成机理、生长发育机理、胁迫响应机理等研究中, 加速茶树品种遗传改良和茶叶品质提升的进程。

参考文献

- Barros E, Lezar S, Anttonen MJ, van Dijk JP, Röhlrig RM, Kok EJ, Engel KH (2010). Comparison of two GM maize varieties with a near-isogenic non-GM variety using transcriptomics, proteomics and metabolomics. *Plant Biotechnol J*, 8 (4): 436–451
- Bino RJ, Hall RD, Fiehn O, Kopka J, Saito K, Draper J, Nikolau BJ, Mendes P, Roessner-Tunali U, Beale MH, et al (2004). Potential of metabolomics as a functional genomics tool. *Trends Plant Sci*, 9 (9): 418–425

- Chang YW, Zhao CX, Zhu Z, Wu ZM, Zhou J, Zhao YN, Lu X, Xu GW (2012). Metabolic profiling based on LC/MS to evaluate unintended effects of transgenic rice with *cryIAc* and *sck* genes. *Plant Mol Biol*, 78 (4–5): 477–487
- Chen W, Gong L, Guo Z, Wang W, Zhang H, Liu X, Yu S, Xiong L, Luo J (2013). A novel integrated method for large-scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics. *Mol Plant*, 6 (6): 1769–1780
- Dai W, Xie D, Lu M, Li P, Lv H, Yang C, Peng Q, Zhu Y, Guo L, Zhang Y, et al (2017). Characterization of white tea metabolome: comparison against green and black tea by a nontargeted metabolomics approach. *Food Res Int*, 96: 40–45
- Dixon RA, Strack D (2003). Phytochemistry meets genome analysis, and beyond..... *Phytochemistry*, 62 (6): 815–816
- Dong JY, Li W, Deng LL, Xu JJ, Griffin JL, Chen Z (2011). New variable scaling method for NMR-based metabolomics data analysis. *Chem J Chin Univ*, 32 (2): 262–268 (in Chinese with English abstract) [董继扬, 李伟, 邓伶俐, 许晶晶, Griffin JL, 陈忠(2011). 核磁共振代谢组学数据的尺度归一化新方法. 高等学校化学学报, 32 (2): 262–268]
- Facchini PJ, Bird DA, St-Pierre B (2004). Can *Arabidopsis* make complex alkaloids? *Trends Plant Sci*, 9 (3): 116–122
- Feng L, Gao MJ, Hou RY, Hu XY, Zhang L, Wan XC, Wei S (2014). Determination of quality constituents in the young leaves of albin tea cultivars. *Food Chem*, 155: 98–104
- Fernie AR, Schauer N (2009). Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? *Trends Genet*, 25: 39–48
- Ferrario-Mery S, Hodges M, Hirel B, Foyer CH (2002). Photorespiration-dependent increases in phosphoenolpyruvate carboxylase, isocitrate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase in transformed tobacco plants deficient in ferredoxin-dependent glutamine- α -ketoglutarate aminotransferase. *Planta*, 214 (6): 877–886
- Fraser K, Lane GA, Otter DE, Harrison SJ, Quek SY, Hemar Y, Rasmussen S (2014). Non-targeted analysis by LC–MS of major metabolite changes during the oolong tea manufacturing in New Zealand. *Food Chem*, 151: 394–403
- Hao Y (2010). Metabolic profiling reveals the effects of different light qualities on the quality formation of fresh tea (*Camellia sinensis*) leaves (Master's thesis). Hefei: Anhui Agricultural University (in Chinese with English abstract) [郝亚利(2010). 基于代谢谱分析的不同光质处理对茶鲜叶品质形成的影响研究(硕士论文). 合肥: 安徽农业大学]
- Harrigan GG, LaPlante RH, Cosma GN, Cockerell G, Goodacre R, Maddox JF, Luyendyk JP, Ganey PE, Roth RA (2004). Application of high-throughput Fourier-transform infrared spectroscopy in toxicology studies: contribution to a study on the development of an animal model for idiosyncratic toxicity. *Toxic Lett*, 146 (3): 197–205
- Holmes E, Nicholls AW, Lindon JC, Connor SC, Connelly JC, Haselden JN, Damment SJ, Spraul M, Neidig P, Nicholson JK (2000). Chemometric models for toxicity classification based on NMR spectra of biofluids. *Chem Res Toxic*, 13 (6): 471–478
- Huang CY, Roessner U, Eickmeier I, Genc Y, Callahan DL, Shirley N, Langridge P, Bacic A (2008). Metabolite profiling reveals distinct changes in carbon and nitrogen metabolism in phosphate-deficient barley plants (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Cell Physiol*, 49 (5): 691–703
- Jeon DB, Hong YS, Lee GH, Park YM, Lee CM, Nho EY, Choi JY, Jamila N, Khan N, Kim KS (2017). Determination of volatile organic compounds, catechins, caffeine and theanine in Jukro tea at three growth stages by chromatographic and spectrometric methods. *Food Chem*, 219: 443–452
- Jing J (2016). Origin traceability and quality prediction of Longjing tea by metabolite fingerprinting (UPLC-Q-TOF/MS) (Master's thesis). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese with English abstract) [景进(2016). 基于代谢指纹图谱对扁形茶的产地溯源及品质预测(硕士论文). 北京: 中国农业科学院]
- Jumtee K, Bamba T, Fukusaki E (2009). Fast GC-FID based metabolic fingerprinting of Japanese green tea leaf for its quality ranking prediction. *J Sep Sci*, 32 (13): 2296–2304
- Krastanov A (2010). Metabolomics – the state of art. *Biotechnol Bio- tech Eq*, 24: 1537–1543
- Ku KM, Choi JN, Kim J, Kim JK, Yoo LG, Lee SJ, Hong YS, Lee CH (2010a). Metabolomics analysis reveals the compositional differences of shade grown tea (*Camellia sinensis* L.). *J Agr Food Chem*, 58: 418–426
- Ku KM, Kim J, Park HJ, Liu KH, Lee CH (2010b). Application of metabolomics in the analysis of manufacturing type of Pu-erh tea and composition changes with different postfermentation year. *J Agr Food Chem*, 58: 345–352
- Lee JE, Lee BJ, Chung JO, Hwang JA, Lee SJ, Lee CH, Hong YS (2010). Geographical and climatic dependencies of green tea (*Camellia sinensis*) metabolites: a ^1H NMR-based metabolomics study. *J Agr Food Chem*, 58: 10582–10589
- Lee JE, Lee BJ, Chung JO, Kim HN, Kim EH, Jung S, Lee H, Lee SJ, Hong YS (2015). Metabolomic unveiling of a diverse range of green tea (*Camellia sinensis*) metabolites dependent on geography. *Food Chem*, 174: 452–459
- Lee JE, Lee BJ, Chung JO, Shin HJ, Lee SJ, Lee CH, Hong YS (2011a). ^1H NMR-based metabolomic characterization during green tea (*Camellia sinensis*) fermentation. *Food Res Int*, 44 (2): 597–604
- Lee JE, Lee BJ, Hwang JA, Ko KS, Chung JO, Kim EH, Lee SJ, Hong YS (2011b). Metabolic dependence of green tea on plucking positions revisited: a metabolomic study. *J Agr Food Chem*, 59: 10579–10585
- Li C (2016). Biosynthesis of secondary metabolites such as flavonoids and the expression of their genes in *Camellia sinensis* (Postdoctoral work report). Hangzhou: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese with English abstract) [李春芳(2016). 茶树类黄酮等次生代谢产物的合成及基因的表达分析(博士后研究报告). 杭州: 中国农业科学院]
- Li W (2012). Application of GC-MS in determining different tea quality (Master's thesis). Nanjing: Nanjing University of Science and Technology (in Chinese with English abstract) [李万春(2012). 气质联用在不同茶叶品质鉴定中的应用(硕士论文). 南京: 南京理工大学]
- Lin YP, Si DY, Liu CX (2007). Advances of liquid chromatography/mass spectrometry combined with chemometric approaches ap-

- plied to metabonomics. *Chin J Anal Chem*, 35 (10): 1535–1540 (in Chinese with English abstract) [林艳萍, 司端运, 刘昌孝 (2007). 液相色谱和质谱联用技术结合化学计量学应用于代谢组学的研究进展. *分析化学*, 35 (10): 1535–1540]
- Morreel K, Goeminne G, Storme V, Sterck L, Ralph J, Coppieters W, Breyne P, Steenackers M, Georges M, Messens E, et al (2006). Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in *Populus*: a case study. *Plant J*, 47 (2): 224–237
- Nicholson JK, Connelly J, Lindon JC, Holmes E (2002). Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function. *Nat Rev Drug Discov*, 1 (2): 153–161
- Pongsuwan W, Bamba T, Harada K, Yonetani T, Kobayashi A, Fukusaki E (2008). High-throughput technique for comprehensive analysis of Japanese green tea quality assessment using ultra-performance liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry (UPLC/TOF MS). *J Agr Food Chem*, 56: 10705–10708
- Pongsuwan W, Fukusaki E, Bamba T, Yonetani T, Yamahara T, Kobayashi A (2007). Prediction of Japanese green tea ranking by gas chromatography/mass spectrometry-based hydrophilic metabolite fingerprinting. *J Agr Food Chem*, 55: 231–236.
- Ryu HW, Yuk HJ, An JH, Kim DY, Song HH, Oh SR (2017). Comparison of secondary metabolite changes in *Camellia sinensis* leaves depending on the growth stage. *Food Control*, 73: 916–921
- Safer S, Cicek SS, Pieri V, Schwaiger S, Schneider P, Wissemann V, Stuppner H (2011). Metabolic fingerprinting of *Leontopodium* species (Asteraceae) by means of ¹H NMR and HPLC–ESI-MS. *Phytochemistry*, 72 (11–12): 1379–1389
- Sarry JE, Kuhn L, Ducruix C, Lafaye A, Junot C, Hugouvieux V, Jourdain A, Bastien O, Fievet JB, Vailhen D, et al (2006). The early responses of *Arabidopsis thaliana* cells to cadmium exposure explored by protein and metabolite profiling analyses. *Proteomics*, 6 (7): 2180–2198
- Sawada Y, Akiyama K, Sakata A, Kuwahara A, Otsuki H, Sakurai T, Saito K, Hirai MY (2009). Widely targeted metabolomics based on large-scale MS/MS data for elucidating metabolite accumulation patterns in plants. *Plant Cell Physiol*, 50 (1): 37–47
- Shen JZ, Wang Y, Chen CS, Ding ZT, Hu JH, Zheng C, Li YC (2015). Metabolite profiling of tea (*Camellia sinensis* L.) leaves in winter. *Sci Hortic*, 192: 1–9
- Sun JC, Bhattacharyya S, Schnackenberg LK, Pence L, Ando Y, Zhang J, Stewart S, Rosenzweig B, Rouse R, Portilla D, et al (2012). Discovery of early urinary biomarkers in preclinical study of gentamicin-induced kidney injury and recovery in rats. *Metabolomics*, 8 (6): 1181–1193
- Tan JF, Dai WD, Lu ML, Lv HP, Guo L, Zhang Y, Zhu Y, Peng QH, Lin Z (2016). Study of the dynamic changes in the non-volatile chemical constituents of black tea during fermentation processing by a non-targeted metabolomics approach. *Food Res Int*, 79: 106–113
- Tarachiwin L, Ute K, Kobayashi A, Fukusaki E (2007). ¹H NMR based metabolic profiling in the evaluation of Japanese green tea quality. *J Agr Food Chem*, 55: 9330–9936
- Tohge T, Nishiyama Y, Hirai MY, Yano M, Nakajima JI, Awazuhara M, Inoue E, Takahashi H, Goodenowe DB, Kitayama M, et al (2005). Functional genomics by integrated analysis of metabolome and transcriptome of *Arabidopsis* plants over-expressing an MYB transcription factor. *Plant J*, 42 (2): 218–235
- Verdonk JC, de Vos CHR, Verhoeven HA, Haring MA, van Tunen AJ, Schuurink RC (2003). Regulation of floral scent production in petunia revealed by targeted metabolomics. *Phytochemistry*, 62 (6): 997–1008
- von Roepenack-Lahaye E, Degenkolb T, Zerjeski M, Franz M, Roth U, Wessjohann L, Schmidt J, Scheel D, Clemens S (2004). Profiling of *Arabidopsis* secondary metabolites by capillary liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Plant Physiol*, 134 (2): 548–559
- Winzer T, Gazda V, He Z, Kaminski F, Kern M, Larson TR, Li Y, Meade F, Teodor R, Vaistij FE, et al (2012). A *Papaver somniferum* 10-gene cluster for synthesis of the anticancer alkaloid noscapine. *Science*, 336 (6089): 1704–1708
- Wishart DS (2008). Applications of metabolomics in drug discovery and development. *Drugs R&D*, 9 (5): 307–322
- Wishart DS, Knox C, Guo AC, Cheng D, Shrivastava S, Tzur D, Gautam B, Hassanali M (2008). DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. *Nucleic Acids Res*, 36 (Database issue): D901–D906
- Wishart DS, Knox C, Guo AC, Eisner R, Young N, Gautam B, Hau DD, Psychogios N, Dong E, Bouatra S, et al (2009). HMDB: a knowledgebase for the human metabolome. *Nucleic Acids Res*, 37 (Database issue): D603–D610
- Wu HW, Gao J, Li SJ, Tang LY, Xu HY, Tang SH, Yang HJ (2013). Study on blood amino acid metabonomics of cerebral ischemia treated by Huangqi injection based on HPLC–MS/MS. *Chin J Anal Chem*, 41 (3): 344–348 (in Chinese with English abstract) [吴宏伟, 高健, 李韶菁, 唐力英, 许海玉, 唐仕欢, 杨洪军 (2013). 基于液相色谱-串联质谱的氨基酸代谢组学方法研究黄芪注射液治疗脑缺血. *分析化学*, 41 (3): 344–348]
- Xu J, Hu FL, Wang W, Wan XC, Bao GH (2015). Investigation on biochemical compositional changes during the microbial fermentation process of Fu brick tea by LC–MS based metabolomics. *Food Chem*, 186: 176–184
- Xu L, Deng DH, Cai CB (2011). Predicting the age and type of Tuocha tea by Fourier transform infrared spectroscopy and chemometric data analysis. *J Agr Food Chem*, 59: 10461–10469
- Xu W, Song Q, Li D, Wan X (2012). Discrimination of the production season of Chinese green tea by chemical analysis in combination with supervised pattern recognition. *J Agr Food Chem*, 60: 7064–7070
- Xu Y, Cheung W, Winder CL, Dunn WB, Goodacre R (2011). Metabolic profiling of meat: assessment of pork hygiene and contamination with *Salmonella typhimurium*. *Analyst*, 136 (3): 508–514
- Zeng C (2016). Metabolomic and transcriptomic analysis during young shoots growing of ‘Anji Baicha’ (*Camellia sinensis*) (PhD thesis). Changsha: Hunan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [曾超珍 (2016). 安吉白茶新梢发育的代谢组与转录组分析 (博士论文). 长沙: 湖南农业大学]
- Zhao W, Xu W, Wang J, Peng X, Huang K (2011). Techniques for me-

- tabolomics and its application. *Biotechnol Bull*, (12): 57–64 (in Chinese with English abstract) [赵维薇, 许文涛, 王龔, 彭晓丽, 黄昆仑(2011). 代谢组学研究技术及其应用. *生物技术通报*, (12): 57–64]
- Zheng Q (2016). ¹H-NMR-based metabolomics for Pu-erh raw tea from four different mountain origins (Master's thesis). Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University (in Chinese with English abstract) [郑起帆(2016). 基于¹H-NMR的四个茶山普洱生茶代谢组学研究(硕士学位论文). 广州: 广东药科大学]
- Zhu M, Li N, Zhao M, Yu W, Wu JL (2017). Metabolomic profiling delineate taste qualities of tea leaf pubescence. *Food Res Int*, 94: 36–44

Advances in application of metabolomics to *Camellia sinensis* research

ZENG Chao-Zhen^{1,2,3}, LIU Zhong-Hua^{2,3,*}, LIU Zhi-Xiang¹, LIN Hai-Yan^{2,3}

¹College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China; ²Key Laboratory of Tea Science, Ministry of Education, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; ³National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha 410128, China

Abstract: As a significant branch of system biology, metabolomics has been extensively applied to various fields, which detects massive endogenous metabolites simultaneously. It can be used to study metabolite changes in the level of metabolism, and plays an important part to furtherly understand metabolic networks and discover new functional genes. Currently, metabolomics is mainly used to study the effect of different factors (plucking position, development stages, season, environmental factor, habitat, processing condition, etc.) on chemical components and quality in *Camellia sinensis* leaves. In this paper, we focus on recent review on the application of metabolomics as well as its prospect, so as to provide some references for further studies and application of metabolomics to *C. sinensis*.

Key words: metabolomics; *Camellia sinensis*; omics

Received 2017-06-05 Accepted 2017-09-11

This work was supported by the Planned Science and Technology Project (Key Research & Development) of Hunan Province, China (Grant No. 2016NK2150), the Project of Hunan Provincial Key Laboratory of Crop Germplasm Innovation and Utilization (Grant No. 16KFXM05), and the Natural Science Foundation of Hunan Province, China (Grant No. 2017JJ3104).

*Corresponding author (E-mail: larkin-liu@163.com).