

中国科学院科学出版基金资助出版

教育部“长江学者和创新团队发展计划”  
(IRT1101)项目资助

# 茶树次生代谢

宛晓春 夏涛等 编著

Secondary Metabolism  
of Tea Plant



科学出版社

中国科学院科学出版基金资助出版  
教育部“长江学者和创新团队发展计划”(IRT1101)项目资助

# 茶树次生代谢

宛晓春 夏 涛 等 编著

科学出版社

北 京

## 内 容 简 介

本书围绕茶树中特征性次生代谢产物,从初生代谢入手,系统地介绍了次生代谢产物的合成积累及其转化、代谢途径与关键酶和代谢调控的分子机制,以及次生代谢物的结构研究与健康功能。既注重了知识的系统性,又重点关注了特征性次生代谢产物;既强调了生物技术等新的技术和方法,又兼顾了与传统产业的结合;既突出理论的严谨性,又做到了理论与实践的衔接。大量文献资料出自安徽农业大学茶树次生代谢与茶叶质量安全研究团队,是团队在茶树次生代谢领域研究成果的归纳和总结,同时也是对国内外该领域最新研究进展的综述和提升。

本书可供茶学、植物学、园艺学、药物化学、天然产物化学及生命科学等学科从事科研、教学和技术开发的相关人员参阅,也可作为茶学高等教育教学和科研工作的参考资料和辅助教材。

### 图书在版编目(CIP)数据

茶树次生代谢 / 宛晓春等编著. —北京: 科学出版社, 2015. 5  
ISBN 978-7-03-044366-3

I. ①茶… II. ①宛… III. ①茶树-代谢-研究 IV. ①S571.101

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 107411 号

责任编辑: 杨 岭 刘 琳 / 责任校对: 韩雨舟  
责任印制: 余少力 / 封面设计: 墨创文化

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号  
邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

成都创新包装印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2015 年 5 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2015 年 5 月第一次印刷 印张: 17 1/2 插页 1

字数: 420 000

定价: 98.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

## 《茶树次生代谢》编委会

主 编 宛晓春 夏 涛

副主编 张正竹

编 委 (按姓氏笔画排序)

王 瑾 杨 华 张 梁 陈 琪

魏 书 王云生 韦朝领 邓威威

刘亚军 张劲松 侯如燕 高丽萍

凌铁军 鲍官虎

## 序

植物合成并积累结构多样的次生代谢产物。与其他植物相比，茶树次生代谢特征鲜明，具体表现在含量丰富的儿茶素、咖啡碱和茶氨酸；同时，茶鲜叶中还含有茶皂素、香气物质、类胡萝卜素和维生素等。正是这些物质赋予茶叶的色、香、味品质特征，使之成为风靡世界的绿色健康饮品。因此，次生代谢是茶树研究的重中之重，是提升茶叶品质、拓宽应用领域的基础。

近年来，茶树次生代谢研究，如儿茶素、咖啡碱和茶氨酸代谢途径的关键酶基因克隆和调控，环境因子对茶树代谢的影响等，取得了可喜进展，但仍有很多问题亟待阐明。例如：茶树中茶氨酸合成酶尚未分离纯化；酯型儿茶素合成的关键酶及调控因子有待发现；已知高剂量的茶多酚有肝毒性，但其致毒机理和敏化因子亟待探究。对这些问题展开研究是进一步提升茶叶产品品质和质量安全水平的重要基础。随着科学和技术的发展，基因组、转录组、蛋白质组和代谢组研究成为密切关联的整体，必将使茶树研究迈上新台阶。

安徽农业大学宛晓春和夏涛教授领导的团队，积极开展茶树次生代谢研究，贡献突出。该校茶学学科是全国茶学研究教育的重要基地，次生代谢是其传统优势方向。2011年，安徽农业大学“茶树次生代谢与质量安全”研究团队获得了教育部“长江学者与创新团队发展计划”的支持。近年来他们相继启动了茶树转录组学、代谢组学和基因组学研究，儿茶素、咖啡碱、茶氨酸和香气物质的一些重要代谢途径被揭示，一批关键酶基因被分离发掘，一系列阶段性成果令人印象深刻。对这些创新结果进行总结和提炼，无论对茶学自身还是对植物次生代谢领域都具有重要价值。

《茶树次生代谢》是一部系统阐述茶树次生代谢研究进展的专著，获得2015年中国科学院科学出版基金的资助。围绕茶树中特征性次生代谢产物，从基础代谢入手，内容涵盖次生代谢产物的合成、积累与转化，生物合成途径与关键酶，调控因子及分子机制，次生代谢物的结构与健康功能等。许多文献资料出自安徽农业大学茶学研究团队，是他们长期潜心研究成果的集中呈现。全书既注重知识的系统性，又关注特征性的代谢产物；既强调新的技术和方法，又兼顾与传统产业的结合；既突出理论的严谨性，又力求理论与实践相结合，是一部不可多得的基础研究力作。本书对茶叶科学、植物次生代谢、天然产物化学等领域的研究人员和广大师生具有重要的参考价值。

陈晓亚

中国科学院院士

中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所研究员

二〇一五年一月九日

## 前 言

安徽农业大学茶学学科前身为复旦大学农学院茶叶专修科，始建于1939年，是我国茶学学科的摇篮。在70多年的办学过程中，对茶树中特征性生化成分的研究一直没有中断，并逐渐强化成学科的特色和优势研究领域。早在复旦大学茶叶专修科创立初期，留学比利时的当代茶学泰斗王泽农教授就开始专攻茶叶生物化学。茶叶生物化学成为一门独立的学科始于20世纪60年代。我国正式出版发行的第一部《茶叶生物化学》，是由农业部组织安徽农学院、浙江农业大学、湖南农学院，根据当时国内外大量但零碎的研究资料及学科发展方向共同编撰而成的，于1961年9月由浙江人民出版社出版。这部教材分为静态生化和动态生化两部分，前者包括茶叶特征成分的性质及分析技术；后者又分为两篇，即茶树栽培的生物化学，以及茶叶制造的生物化学和化学变化，反映了由茶叶成分化学向茶叶生物化学过渡的状况。经过近20年的使用，农业部根据当时学科发展需要，重新组织编写了全国高校统编教材——《茶叶生物化学》，并于1980年由农业出版社出版，此后又分别于1984年和2003年相继出版了《茶叶生物化学》的第二版和第三版，其间，1981年由王泽农教授主编出版了《茶叶生化原理》专著，作为《茶叶生物化学》的辅助教材。这些教材和专著突出了基本概念和基本理论，重点介绍了茶叶基本生化成分的结构、性质、转化规律；茶叶生化成分与茶叶品质关系；茶叶加工过程中化学成分的变化，如多酚类物质的形成与转化，茶叶香气的形成与转化、茶叶化学成分的健康功能；茶叶生化成分的分离分析技术，茶叶生物化学研究方法等。其中也涉及了茶树次生代谢，如茶树特征性次生代谢产物的生物合成和转化途径，茶树中酶系统的作用和调控等，基本反映了当时茶叶生物化学的研究水平和发展趋势。

植物化学与分子生物学的发展，基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学成为密切关联的整体，不仅大大推进了植物次生代谢研究的深度，而且带动了茶树次生代谢研究的不断深入，以茶树为材料的基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学研究报道逐年增长，并不断孕育着新的研究方法、平台与策略。

1997年，安徽农业大学搭建了农业部茶叶生物技术实验室研究平台，茶树次生代谢研究成为实验室的主要研究方向，相继启动了茶树转录组学、代谢组学和基因组学研究，茶树中的特征性次生代谢物儿茶素、咖啡碱、茶氨酸和挥发性香气物质的部分重要代谢途径被揭示，一批代谢途径中的关键酶和基因被分离发掘，取得了一系列阶段性成果。2011年，安徽农业大学“茶树次生代谢与质量安全”研究团队获得了教育部“长江学者和创新团队发展计划”的支持，作为学科发展和团队建设的重要内容之一，我们尝试对茶树次生代谢领域的研究成果进行归纳和总结，以期为同行提供系统性的研究资料。

《茶树次生代谢》全书分为10章，前言和第1章绪论由宛晓春和张正竹编著，第2章茶树初生代谢由高丽萍、夏涛和王云生编著，第3章儿茶素代谢由夏涛、高丽萍和刘亚军编著，第4章咖啡碱代谢由邓威威和张正竹编著，第5章茶氨酸代谢由宛晓春和陈琪编著，第6章茶皂苷由宛晓春和侯如燕编著，第7章茶叶香气由张正竹、魏书、王瑾编著，

第 8 章茶树次生代谢产物与健康由张劲松和宛晓春编著，第 9 章茶树次生代谢的分子基础由宛晓春、韦朝领和杨华编著，第 10 章茶树次生代谢产物研究由鲍官虎、凌铁军和张梁编著。全书由宛晓春、夏涛主编，张正竹副主编。

本书在编写过程中，得到了教育部、安徽省教育厅、科学出版社和安徽农业大学的大力支持，在此一并深表感谢！

由于编者水平有限，不足之处在所难免，望广大读者批评、指正。

编 者

2014 年 2 月 18 日

# 目 录

第1章 绪论	1
1.1 茶树次生代谢研究的意义	1
1.2 近年来取得的重要进展	2
1.2.1 茶树次生代谢产物的研究	2
1.2.2 茶树中主要次生代谢产物的代谢途径	2
1.2.3 茶树基因组学研究	12
1.3 结语	13
参考文献	14
第2章 茶树初生代谢	19
2.1 高等植物初生代谢	19
2.2 高等植物初生代谢的主要途径	19
2.2.1 植物的碳代谢	19
2.2.2 植物氨基酸合成代谢	30
2.2.3 植物脂肪代谢途径	32
2.3 茶树的初生代谢特点	35
2.3.1 茶树的碳代谢特点	35
2.3.2 茶树的氮代谢特点	36
2.4 高等植物中初生代谢和次生代谢的关系	37
参考文献	38
第3章 儿茶素代谢	39
3.1 儿茶素的类型	39
3.2 儿茶素的生物合成途径与调控	41
3.2.1 儿茶素的生物合成途径	41
3.2.2 儿茶素合成途径的转录调控	50
3.2.3 环境条件对儿茶素代谢的影响	51
3.3 儿茶素类物质在茶叶加工和贮藏中的变化	54
3.3.1 儿茶素类物质在加工和贮藏过程中发生的化学反应	54
3.3.2 儿茶素类物质在绿茶加工过程中的变化	56
3.3.3 儿茶素类物质在红茶加工过程中的变化	56
3.3.4 儿茶素类物质在黑茶加工过程中的变化	57
3.3.5 儿茶素类物质在乌龙茶加工过程中的变化	57
3.3.6 茶素类物质在茶叶贮藏过程中的变化	58



参考文献 .....	59
<b>第 4 章 咖啡碱代谢</b> .....	<b>65</b>
4.1 茶树生物碱的组成及咖啡碱的分布 .....	65
4.1.1 咖啡碱在植物中的分布 .....	65
4.1.2 咖啡碱在茶树体内的分布 .....	66
4.2 咖啡碱的代谢途径与调控 .....	67
4.2.1 茶树体内咖啡碱的生物合成 .....	67
4.2.2 茶树咖啡碱生物合成途径中重要的酶及基因 .....	77
4.2.3 茶树咖啡碱代谢调控 .....	78
4.3 环境条件对咖啡碱代谢的影响 .....	80
4.3.1 光照对咖啡碱代谢的影响 .....	80
4.3.2 温度对咖啡碱代谢的影响 .....	80
4.3.3 水、肥条件对咖啡碱代谢的影响 .....	81
4.3.4 地理状况对咖啡碱代谢的影响 .....	82
4.3.5 人工调节对咖啡碱代谢的影响 .....	82
4.4 加工与贮藏环境对咖啡碱代谢的影响 .....	82
4.4.1 加工过程对咖啡碱代谢的影响 .....	82
4.4.2 贮藏环境对咖啡碱代谢的影响 .....	83
参考文献 .....	84
<b>第 5 章 茶氨酸代谢</b> .....	<b>88</b>
5.1 茶氨酸的性质 .....	88
5.1.1 茶氨酸的理化性质 .....	88
5.1.2 茶树体内茶氨酸的分布及变化 .....	88
5.2 茶氨酸的代谢途径与调控 .....	89
5.2.1 茶树体内茶氨酸的代谢途径 .....	89
5.2.2 茶氨酸合成的组织特异性 .....	90
5.2.3 参与茶氨酸代谢的酶学研究 .....	92
5.2.4 茶树体内茶氨酸代谢的调控研究 .....	96
5.3 环境条件对茶氨酸代谢的影响 .....	98
5.3.1 光照对茶氨酸代谢的影响 .....	98
5.3.2 氮素营养对茶氨酸代谢的影响 .....	100
5.4 加工和贮藏环境对茶氨酸代谢的影响 .....	102
5.4.1 加工对茶氨酸代谢的影响 .....	102
5.4.2 贮藏环境对茶氨酸代谢的影响 .....	103
参考文献 .....	104
<b>第 6 章 茶皂苷</b> .....	<b>108</b>
6.1 茶皂苷的化学结构 .....	108

6.1.1 茶籽	116
6.1.2 茶花	117
6.1.3 茶树根、茎	117
6.1.4 茶树叶片	117
6.2 茶皂苷的生物活性	118
6.2.1 抗高血脂高血压	118
6.2.2 抑制乙醇吸收	119
6.2.3 抑制黑色素	119
6.2.4 肠胃活性	119
6.2.5 抗过敏	119
6.2.6 抗炎	120
6.2.7 其他	120
参考文献	121
<b>第7章 茶叶香气</b>	<b>125</b>
7.1 茶叶香气的组成	125
7.1.1 醇类	125
7.1.2 醛类	127
7.1.3 酮类	128
7.1.4 羧酸类	128
7.1.5 酯类	129
7.1.6 内酯类	130
7.1.7 酸类	130
7.1.8 酚类	130
7.1.9 杂氧化合物	130
7.1.10 含硫化合物	131
7.1.11 含氮化合物	131
7.2 茶的香型	131
7.2.1 六大茶类香气特征	132
7.2.2 茶叶香型及主要香气组分	137
7.3 茶叶香气的形成途径	138
7.3.1 茶叶香气组分的生物合成	138
7.3.2 加工过程中茶叶香气的形成	145
7.4 茶园生态及茶树品种对茶叶香气形成的影响	149
7.4.1 茶园生态对茶叶香气的影响	150
7.4.2 茶树品种对茶叶香气的影响	154
7.5 茶叶贮藏过程中香气的变化	155
7.5.1 贮藏环境及包装材料对茶叶香气的影响	155

7.5.2 脂肪酸氧化对香气的影响 .....	156
7.5.3 贮藏过程中普洱茶的后熟阶段 .....	157
参考文献 .....	157
<b>第8章 茶树次生代谢产物与健康</b> .....	<b>163</b>
8.1 茶树次生代谢产物与癌症 .....	163
8.1.1 儿茶素与癌症 .....	163
8.1.2 茶黄素与癌症 .....	165
8.1.3 咖啡碱与癌症 .....	166
8.2 茶树次生代谢产物与心血管疾病 .....	166
8.2.1 儿茶素和茶黄素抑制脂肪吸收和脂质沉积 .....	166
8.2.2 儿茶素缓解内皮功能紊乱 .....	167
8.2.3 儿茶素抗血小板凝集 .....	167
8.2.4 儿茶素抵抗氧化逆境 .....	167
8.2.5 儿茶素缓解炎症反应 .....	167
8.3 茶树次生代谢产物与糖尿病 .....	167
8.4 茶树次生代谢产物与神经保护 .....	169
8.5 茶树次生代谢产物与皮肤健康 .....	170
8.6 其他 .....	170
8.6.1 骨健康 .....	170
8.6.2 抗菌、抗病毒 .....	171
8.6.3 免疫力 .....	171
8.6.4 关节炎 .....	172
8.7 小结 .....	172
参考文献 .....	172
<b>第9章 茶树次生代谢的分子基础</b> .....	<b>180</b>
9.1 茶树次生代谢相关功能基因的克隆与分离技术 .....	180
9.1.1 基因克隆技术 .....	180
9.1.2 茶树次生代谢相关基因的发掘和分离方法 .....	184
9.2 茶树次生代谢相关功能基因的表达技术 .....	195
9.2.1 原核表达系统 .....	196
9.2.2 真核表达系统 .....	198
9.3 茶树次生代谢相关基因功能研究的技术和方法 .....	203
9.3.1 基因的生物信息学预测分析 .....	203
9.3.2 基因的时空表达谱和亚细胞定位分析 .....	204
9.3.3 基于功能缺失和功能获得策略的基因功能验证 .....	206
9.3.4 基因编码产物相互作用 DNA/蛋白质的研究 .....	208
参考文献 .....	210

---

<b>第 10 章 茶树次生代谢产物研究</b> .....	217
10.1 茶树次生代谢产物分离纯化及代谢组学研究方法 .....	217
10.1.1 茶多酚的提取、分离和纯化 .....	217
10.1.2 茶皂素的分离纯化 .....	221
10.1.3 茶氨酸的分离、纯化 .....	223
10.1.4 咖啡碱的超临界流体萃取分离 .....	224
10.1.5 茶叶香气物质的超临界 CO <sub>2</sub> 萃取 .....	224
10.1.6 茶叶中鞣质成分的分离、纯化 .....	225
10.1.7 茶树其他化学成分分离纯化 .....	226
10.1.8 茶树代谢组学研究方法 .....	227
10.2 茶次生代谢结构解析方法 .....	229
10.2.1 有机化合物结构鉴定的一般方法 .....	229
10.2.2 茶类黄酮和茶三萜的结构及光谱特点 .....	244
10.2.3 结构解析实例 .....	252
10.3 茶树次生代谢产物化合物标准库 .....	258
10.3.1 概述 .....	258
10.3.2 茶树次生代谢化合物信息库 .....	259
10.3.3 茶叶化合物实体库的建立 .....	260
10.3.4 化合物库的管理 .....	261
参考文献 .....	261

# 第 1 章 绪 论

## 1.1 茶树次生代谢研究的意义

在生物体内，化合物通过生物化学反应被合成或降解的过程称为代谢 (metabolism)。其中，合成生物体生存所必需的化合物如糖类、蛋白质、脂类和核酸类的代谢称为初生代谢 (primary metabolism)，形成的产物分子质量一般很大，又称为大分子化合物。生物体利用初生代谢产物为原料，在酶的催化作用下，形成一些小分子的化学物质，称为次生代谢产物 (secondary metabolite)<sup>[1]</sup>。植物和微生物都能够合成大量次生代谢产物，这些小分子有机物在植物类群中特异性分布，次生代谢产物不是细胞生命活动或植物生长发育所必需的，在已知的光合作用、呼吸、同化物运输及生长分化等过程中没有明显的或直接的作用，因此多年来曾一直被认为是植物体内的废物。越来越多的研究显示，植物次生代谢产物的形成多与植物的繁殖、抗逆有关系，并非可有可无，在处理植物与生态环境关系上充当着重要的角色。通过对植物次生代谢的调控，改变次生代谢产物的含量，可提高植物的防御能力，大量有益的次生代谢产物还可用于医药生产和人类疾病的防治等方面。

植物次生代谢产物估计在 10 万种以上，包括萜类、酚类（黄酮类、花色苷）、生物碱等，它们都是由初生代谢途径衍生而来的<sup>[2]</sup>。

茶树隶属于双子叶植物纲 (Dicotyedoneae) 山茶目 (Theales) 山茶科 (Theaceae) 山茶属 (*Camellia*)。按照国际命名法，茶树的学名为 *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze。世界上所有茶树都属于 *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze 这一个基本种，分为两个亚种，即中国亚种和阿萨姆亚种。中国亚种主要分布于中国、日本和俄罗斯等国，树型较矮小，属灌木型或半乔木型，叶片不大，叶面光滑具有革质，开花早而多。根据形态特征，中国亚种又可分为两个类型，即武夷变种和大叶变种。武夷变种主要分布在我国东部、东南部和日本等；大叶变种主要分布在我国西南地区的云南、贵州、四川一带。

植物次生代谢是其在长期进化中与环境相互作用的结果。与其他植物相比，茶树次生代谢产物有其独特性，茶树芽叶中含有极其丰富的儿茶素、咖啡碱和茶氨酸等特征性次生代谢产物，这些物质不仅赋予了茶叶独有的色、香、味品质，而且与人体健康密切相关。近年来我国虽然在茶树次生代谢、茶叶加工化学等方面取得了较大进展，但是很多重要的理论问题亟待阐明。例如，茶树中茶氨酸合成酶的分离；茶树中酯型儿茶素合成的关键功能基因及调节基因的研究一直空白；酯型儿茶素及其合成前体物质没食子酸合成代谢的分子机制，不仅是茶学界的焦点难题，而且是富含原花青素或缩合单宁植物（如葡萄、柿子）的未解科学难题；有关茶树的萜类糖苷香气前体物质生物合成的机制，所知也非常有限；为什么茶树中积累了大量的特异性非蛋白质氨基酸茶氨酸，并且在不同品种、不同季节和栽培环境的茶树个体中含量差异显著等。这些问题的阐明是解决茶叶生产问题的理论基础。

## 1.2 近年来取得的重要进展

### 1.2.1 茶树次生代谢产物的研究

茶树次生代谢研究源于对茶叶中特征性次生代谢产物的兴趣。1827年,英国化学家Oudry<sup>[3]</sup>发现了茶叶中含有特殊的嘌呤碱化合物,当时称之为茶素,即咖啡碱,被认为是茶叶生物化学研究的起点;1867年,德国化学家Hlasiwetz发现茶叶中含有带没食子酸的单宁<sup>[4]</sup>;1901年起,Weil<sup>[5]</sup>、Halberkann<sup>[6]</sup>和青山新次郎<sup>[7]</sup>先后从茶籽中分离出茶皂苷;1950年,日本的酒户弥二郎从茶叶中分离出茶氨酸<sup>[8]</sup>。分离、分析技术和检测方法的快速发展,色谱与质谱技术联用、计算机技术和化学计量学的有机结合,使茶树次生代谢产物分析的研究取得了长足的进展,并逐步建立了系统的次生代谢产物的分离与检测方法。近年来,相继建立了茶树儿茶素组织定位的检测方法<sup>[9]</sup>;分离纯化出4种主要茶黄素单体,建立了茶黄素含量高效液相色谱测定法(HPLC),解决了红茶色素产品中茶黄素的定量问题<sup>[10]</sup>;利用膜分离、大孔吸附树脂柱层析、高速逆流色谱(HSCCC)等技术进行红茶色素产品的精制,精制后的产品茶黄素含量最高可达80%以上而咖啡碱低于1%<sup>[11]</sup>;建立了茶树叶片中茶树糖苷类香气前体的定量方法<sup>[12]</sup>;利用建立的分离技术体系,从茯砖茶中纯化得到3种新的三萜类化合物<sup>[13,14]</sup>;建立了以表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)与咖啡碱为主成分的苦味和涩味强度函数的化学评判方法,并通过感官评审对函数预测进行了验证,利用该方法实现了对不同季节绿茶的化学鉴别<sup>[15]</sup>。

2013年,开发了茶树次生代谢产物数据库(<http://pcsb.ahau.edu.cn:8080/TCDB/download.jsp>),目前数据库中记录有1450种化合物,超过30000条数据信息。

### 1.2.2 茶树中主要次生代谢产物的代谢途径

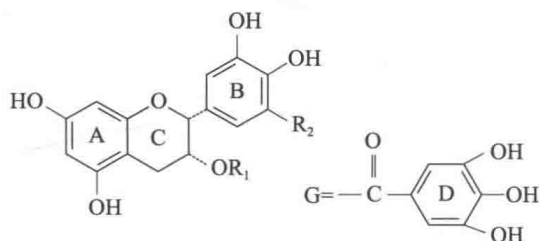
茶树次生代谢由茶树初级代谢派生而来。次生代谢有其独特性,具体表现在含量极其丰富的儿茶素、咖啡碱和茶氨酸等次生代谢产物上;同时,茶鲜叶中还含有丰富的茶皂素、香气物质、类胡萝卜素、维生素等代谢产物。这些物质最终赋予了茶叶的色、香、味品质特征,使之成为风靡世界的绿色健康饮品。

近年来,茶树次生代谢产物代谢途径的研究主要集中在与茶叶品质和健康密切相关的儿茶素、咖啡碱和茶氨酸的代谢途径、关键酶及其基因的研究,以及外界环境等因子对茶树次生代谢的影响等方面。

#### 1. 儿茶素

儿茶素是茶叶主要的生物活性成分,占茶鲜叶干物重的12%~24%,与茶叶品质和茶叶的保健功效密切相关<sup>[1]</sup>。大量研究表明,儿茶素特别是没食子酰基化的儿茶素具有明显的抗氧化、防癌抗癌、预防心血管疾病等功效,是茶叶中广受关注的功能成分<sup>[16]</sup>。儿茶素为2-苯基苯并吡喃的衍生物,其基本结构包括A、B和C3个基本环,根据B环和C环上连接基团的不同,儿茶素主要分为以下4种,分别为表儿茶素(epicatechin, EC)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate,

ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin gallate, EGCG), 如图 1-1 所示<sup>[17]</sup>, EC 和 EGC 称为非酯型儿茶素或简单儿茶素, ECG 和 EGCG 称为酯型儿茶素或复杂儿茶素。此外, 还含有少量的 (+)-GC、(+)-GCG、(+)-CG、(+)-C。在儿茶素类物质当中, 酯型儿茶素 EGCG 和 ECG 为主要组分, 它们分别占茶叶中儿茶素总量的 50%~60% 和 15%~20%<sup>[18]</sup>。



R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>				
H	H	(-)-epicatechin	EC	表儿茶素	} 非酯型儿茶素
H	OH	(-)-epigallocatechin	EGC	表没食子儿茶素	
没食子酰基	H	(-)-epicatechin gallate	ECG	表儿茶素没食子酸酯	} 酯型儿茶素
没食子酰基	OH	(-)-epigallocatechin gallate	EGCG	表没食子儿茶素没食子酸酯	

图 1-1 茶叶中主要儿茶素的分子结构

在植物次生代谢研究中, 儿茶素作为植物中广泛分布的一类黄酮类化合物, EC 和 (+)-C 的生物合成途径已基本清楚, 如图 1-2 所示。儿茶素经莽草酸途径由苯丙酸盐形成香豆酰 CoA (CoA 即辅酶 A), 香豆酰 CoA 与 3 个丙二酰 CoA 合成查耳酮, 经查耳酮异构酶生成黄烷酮; 黄烷酮经黄烷酮-3-羟化酶 (F3H)、二氢黄酮醇还原酶 (DFR) 催化形成无色花青素即黄烷-3,4-二醇 (花白素); 无色花青素经无色花青素还原酶 (LAR) 催化形成 C [catechin, (+)-儿茶素], 或者经花青素合成酶 (ANS) 和花青素还原酶 (ANR) 两步催化形成 EC (epicatechin, 表儿茶素)。迄今, 表没食子儿茶素 [(+)-GC 和 EGC] 和酯型儿茶素 (ECG、EGCG、CG 和 GCG) 的生物合成途径尚不清楚。其可能的生物合成途径如图 1-2 中虚线所示<sup>[19~21]</sup>, 其关键酶黄烷酮-3', 5'-羟化酶 (flavanone-3', 5'-hydroxylase, F3', 5'H) 和没食子酰基转移酶 (galloyl-transferase, GT) 的研究在茶树中未见报道。

儿茶素或表儿茶素在植物界分布极为广泛, 而酯型儿茶素在植物界除了在葡萄中有微量存在外<sup>[22]</sup>, 只在茶树中大量存在, 并且茶树中酯型儿茶素的含量远远高于简单儿茶素。酯型儿茶素较非酯型儿茶素滋味更加苦涩<sup>[23]</sup>, 含量过高则影响茶叶风味品质; 然而, 酯型儿茶素的生物活性 (如抗氧化、防癌抗癌、预防心血管疾病) 又明显优于简单儿茶素<sup>[24]</sup>; 相关研究还发现, B 环 3', 4', 5'-三羟基化的 EGCG 的生物学活性要高于 B 环仅 3', 4'-二羟基化的 ECG<sup>[25]</sup>, 而催化茶树中儿茶素 B 环三羟基化的关键酶是 F3', 5'H。对催化从简单儿茶素到酯型儿茶素的关键酶 (没食子酰基转移酶 GT) 的研究和其活性调控是实现茶树中酯型儿茶素代谢调控的关键。

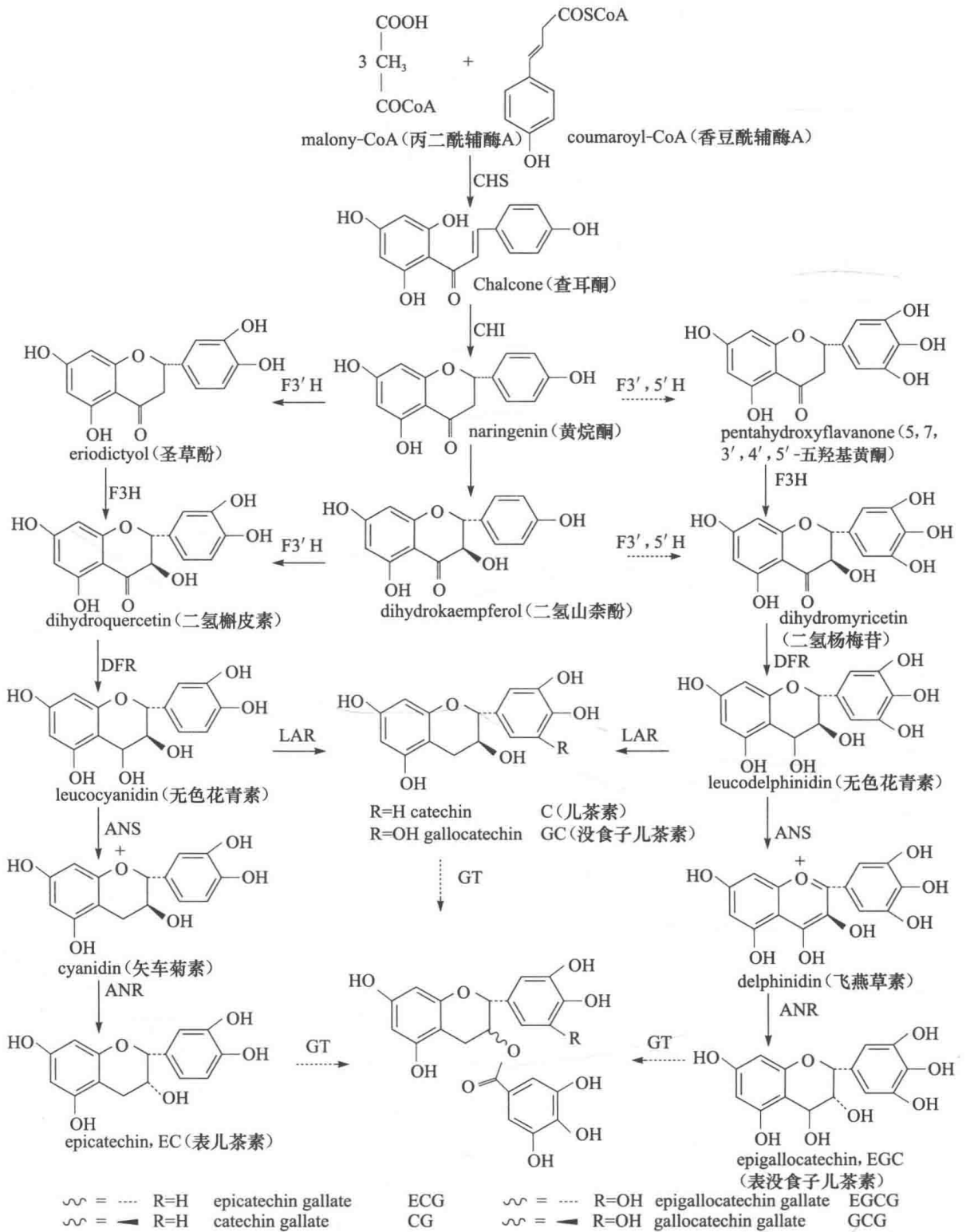


图 1-2 茶树中儿茶素的生物合成途径 (虚线部分有待证实)

CHS (chalcone synthase). 查耳酮合成酶; CHI (chalcone isomerase). 查耳酮异构酶; F3H (flavanone-3-hydroxylase). 黄烷酮-3-羟化酶; F3' H (flavanone-3'-hydroxylase). 黄烷酮-3'-羟化酶; F3', 5' H (flavanone-3', 5'-hydroxylase). 黄烷酮-3', 5'-羟化酶; DFR (dihydroflavone reductase; leucoanthocyanidin). 二氢黄酮醇还原酶; LAR (leucoanthocyanidin reductase). 无色花青素还原酶; ANS (anthocyanidin synthase). 花青素合成酶; ANR (anthocyanidin reductase). 花青素还原酶; GT (galloyl-transferase). 没食子酰基转移酶



茶树体内富含多酚类化合物,其再生体系的建立非常困难,这是国内外茶树次生代谢研究进展缓慢的重要原因之一<sup>[26]</sup>。借用葡萄毛状根转化系统和已完成的葡萄基因组测序<sup>[27]</sup>,以及成熟的酵母表达系统<sup>[28]</sup>,有望为研究儿茶素生物合成与代谢调控的分子机制提供借鉴。

近年来,研究发现,酯型儿茶素合成涉及两步反应,即没食子酸首先在尿谷氨酰转肽酶(UGGT)催化下,被活化形成1-O-没食子酰- $\beta$ -葡萄糖,以此作为活化的酰基供体(1-O-glcesters),再在表儿茶素没食子酰基转移酶(ECGT)作用下,将没食子酰基转移到顺式非酯型儿茶素的C环3位上而形成酯型儿茶素<sup>[29]</sup>。在前期构建的茶树转录组cDNA文库、SSH差减文库和基因组测序的基础上,获得与茶树黄酮类物质代谢相关的转录因子MYB、WD40和bHLH<sup>[30]</sup>。

利用UPLC-3QMS/MS、HPLC-TOF/MS、荧光定量PCR技术和聚类分析,对茶树发育相关和组织特异性相关的酚类物质积累模式、63个酚类物质合成相关结构基因和转录因子基因表达模式进行了相关分析。利用体外表达手段(原核与真核),对茶树酚类物质合成关键酶基因ANR1、ANR2、DFR1、DFR2、LCR1、F3',5'H、MYB5功能进行了功能鉴定<sup>[31,32]</sup>。

## 2. 咖啡碱

茶树是自然界为数不多的富含咖啡碱(1,3,7-三甲基黄嘌呤)的高等植物,已发现自然界至少有60种植物含有咖啡碱,其中含量比较高的植物除茶树(*Camellia sinensis*, 2%~4%)及咖啡(*Coffea arabica*, 1%~2.5%)以外,还有可可(*Theobroma cacao*, 0.6%~0.8%)、巴拉圭茶(*Ilex paraguariensis*, 0.8%~0.9%)、瓜拉拿泡林藤(*Paullinia cupana*, 4%~8%)等<sup>[33]</sup>。由于茶树中的咖啡碱主要存在于叶片内,且以幼嫩叶中含量最高,随叶片老化而逐渐减少;咖啡碱在其他植物中主要存在于果实或种子中,叶片内含量极少,因此咖啡碱作为茶叶特征性成分常被用作判断真假茶叶的重要指标之一。

咖啡碱是风靡世界的3大软饮料植物(茶、咖啡和可可)中的共有成分。咖啡碱一方面是茶叶中重要的滋味物质,其本身具有苦味,与茶黄素以氢键缔合形成的复合物具有鲜爽味;另一方面咖啡碱是一种甲基黄嘌呤衍生物,对人体基本的生理功能是对腺嘌呤受体的竞争性拮抗作用。咖啡碱普遍存在于咖啡、茶、碳酸饮料、巧克力和许多处方与非处方的药物中,是一种较为普通的、具有兴奋性的食物和药物成分。确切地说,咖啡碱可以升高血压、增加血液中的儿茶酚胺的含量、增强血液中高血压蛋白原酶的活力、提高血清中游离脂肪酸的水平、利尿和增加胃酸的分泌<sup>[34~40]</sup>。因此,适量摄入咖啡碱对人体健康有积极的影响。而高剂量摄入咖啡碱又会刺激中枢神经、影响睡眠、增高血压、提高类风湿关节炎的患病率、致突变及引起婴儿早产等<sup>[41~44]</sup>。因此,保持了茶叶风味和营养成分的低咖啡碱茶和茶制品,受到了消费者的欢迎。20世纪80年代初在中国广东境内发现的一种天然无咖啡碱茶树品种——南昆山毛叶茶(*Camellia ptilophylla* Chang)中,虽然不含咖啡碱,但可可碱含量很高,同样不能满足消费者需求。因此,调控饮料植物中咖啡碱的含量具有重要的理论意义和应用价值。

1) 茶树体内咖啡碱的合成、贮存部位及分布规律已经阐明

茶树体内除种子外,其他各部位均含有咖啡碱,含量以幼嫩新梢部位最多,茎梗中较