

## 基于化学成分全扫描与多元统计的三峡库区 绿茶特征差异化合物分析\*

秦采奕<sup>1</sup>, 郭延奎<sup>2</sup>, 龙成燕<sup>2</sup>, 张莉<sup>2</sup>, 白亚敏<sup>3</sup>, 张磊<sup>1</sup>

(1. 重庆师范大学 生命科学学院, 重庆 401331; 2. 重庆市中药研究院, 重庆 400065;

3. 重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121)

**摘要:**为实现对茶叶原产地产品的区分和保护,建立了一种基于质谱全扫描结合系统聚类的渝产茶叶成分差异分析方法。以三峡库区绿茶为研究对象,采用高效液相色谱串联高分辨质谱进行化学成分全扫描分析,筛选确认茶叶化学成分65种;结合主成分分析和偏最小二乘法建立茶叶地理来源与成分关联的相关性分析模型,筛选得到与地理信息相关的特征成分13个;通过进一步的定量分析,最终确定表儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯、茶碱、谷氨酸、槲皮素、咖啡酸、芦丁、绿原酸和没食子酸在不同地理来源的茶叶间具有良好的区分。该方法高效、稳定,专属性强,为茶叶产品物质基础与地理溯源研究提供补充。

**关键词:**超高效液相色谱-串联高分辨质谱;主成分分析;偏最小二乘分析;三重四级杆质谱;聚类分析;绿茶

**中图分类号:**S571.1

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-6693(2026)01-0081-12

茶叶的风味和质量与产地、生境、气候等有着非常密切的联系。众所周知,不同产地的茶叶在商业价值上存在巨大的差异,因此,市场上以非原产地茶叶假冒原产地茶叶的现象日益严重<sup>[1]</sup>。假冒的原产地茶叶仅从外观上难以被普通消费者辨认区分。为实现对茶叶原产地产品的保护,建立科学可靠的茶叶品质评价体系及产地溯源技术,对于保护优质产地产品、保护消费者合法权益等都具有重要意义。

化学成分是茶叶风味和品质的重要物质基础,而成分的种类、含量等与茶叶产地高度相关。近些年来在茶叶品质评价及分类分级的相关研究中,虞昕磊<sup>[2]</sup>曾运用矿物元素指纹图谱技术对江西茶叶产品进行产地溯源研究;孙晓荣等人<sup>[3]</sup>基于近红外光谱采集的漫反射光谱建立优化向量机模型,以实现新旧茶叶的分类;刘洪林等人<sup>[4]</sup>借助转录组学研究了鲜叶摊放方式对绿茶品质成分代谢的影响,评判将低温摊放技术应用到茶产业生产中的可行性;徐邢燕<sup>[5]</sup>基于代谢组学方法研究了不同等级武夷肉桂茶的品质评价因素,为规范不同风格产品品质提供依据;周鹏<sup>[6]</sup>基于液质联用技术对五大茶类进行差异性分析,初步建立以铁观音为主要对象的茶叶品质鉴定的方法。学者们对造成茶叶品质差异化的影响因素进行探究,为生产优质茶产品提供理论参考,有助于优化评价手段及监管对策。

在天然化学成分的快速筛选与精准鉴别中超高效液相色谱-串联高分辨质谱系统(ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF/MS)表现出了强大的解析能力<sup>[7]</sup>。基于高分辨质谱采集的庞大数据,综合运用确定组分特征、含量规律与相关性的主成分分析法(principal component analysis, PCA),可对培训集样本建立判别模型。具有良好分类效果的偏最小二乘分析法(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)等系统聚类方法,则极大地优化研究流程,简洁化数据集,快速识别特征性差异成分,构建品质综合评价模型<sup>[8-10]</sup>。

\* 收稿日期:2025-04-24 修回日期:2025-09-12 网络出版时间:2026-03-19T14:04

**资助项目:**国家自然科学基金青年基金项目(No. 32502353);重庆市教育委员会科学技术研究重大项目(No. KJZD-M202415101);四川省中央引导地方科技发展专项(No. 2024ZYD0047);重庆市科学技术局科研院所绩效激励引导专项(No. zzkjyh2024016);重庆市卫生健康委员会科卫联合中医药重点项目(No. 2025ZYD006);大学生创新训练计划项目(No. X202410637019, No. X202410637020);重庆市技术创新与应用发展专项(No. CSTB2025TIAD-qykjggX0430)

**第一作者简介:**秦采奕,女,研究方向为代谢组学、食品质量与安全,E-mail:2024210513067@stu.cqnu.edu.cn;通信作者简介:张磊,女,副教授,博士,E-mail:leizhang@cqnu.edu.cn

**网络出版地址:**https://link.cnki.net/urlid/50.1165.N.20260319.1007.002

三峡库区属亚热带季风气候,昼夜温差大,利于茶树内含物质积累,显著提升茶叶品质<sup>[1]</sup>;地质以黄壤和红壤为主,土壤肥沃且 pH 适中,为茶树生长提供了充足养分。库区生态环境优良,森林覆盖率高,污染少,适宜绿色有机茶种植;同时库区还拥有悠久的茶文化历史和丰富的传统制茶工艺,有利于茶叶的生产。三峡工程引发的“库区效应”进一步改变了局部气候,这一变化对茶树生长及茶叶品质的影响具有独特研究价值。

本研究选择三峡库区绿茶为研究对象,采用 UPLC-Q-TOF/MS 分析其化学物质组成,综合运用 PCA 和 PLS-DA,筛选出茶叶样本的特征差异化合物,并进行定量分析,探索性分析茶叶化学成分与地域的相关性,建立可区分三峡库区绿茶地理来源的参考模型,进一步为渝产绿茶品质评价及产品溯源提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

本研究所用的绿原酸标准品(chlorogenic acid)、芦丁标准品(rutin)、咖啡酸标准品(caffeic acid)、表没食子儿茶素没食子酸酯标准品(epigallocatechin gallate, EGCG)、茶碱标准品(theophylline)、槲皮素标准品(querctetin)均购自上海源叶生物科技有限公司,标准品的纯度均不低于 98%,咖啡因标准品溶液(caffeine,  $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )亦购自上海源叶生物科技有限公司,L-苹果酸标准品(L-malic acid)、没食子酸标准品(gallic acid)及原儿茶酸标准品(protocatechuic acid)购自中国食品药品检定研究院,氨基酸混合标准溶液(批号:17010122,物质的量浓度为  $2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )购自塞卡姆(北京)科学仪器有限公司,甲酸(formic acid, Sigma-Aldrich 公司,批号:156068)购自 Sigma-Aldrich 公司,乙腈(LC-MS 级,批号:155753)、甲醇(LC-MS 级,批号:146503)和水(LC-MS 级,批号:L-12968)购自美国 Fisher 公司。

### 1.2 仪器与设备

本研究所使用的设备包括:Triple TOF4600 高分辨质谱系统(美国 AB SCIEX 公司),配 LC-30AD 超高效液相系统(日本 SHIMADZU 公司);API4000 三重四级杆质谱系统(美国 AB SCIEX 公司),配 LC-30AD 超高效液相系统(日本 SHIMADZU 公司);JY92-IIN 超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);BS224S 电子天平(sartorius);XS105DU 电子天平(梅特勒-托利多)及 sigma1-14 离心机(Beckman)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 样品收集

本实验根据消费者的饮茶习惯,选择市场上销售的产地标注为重庆的茶叶产品 35 个,经分析,其中有 14 个茶叶样品因商品标识存在异常,不纳入样品,剩余有效样品 21 个详见表 1。

#### 1.3.2 样品前处理

茶叶样品烘干后粉碎过 80 目筛,取各样品粉末约 1.0 g 加入体积比为 1:1 的甲醇-水溶液后定容至 10 mL 置于超声波细胞粉碎机中提取 3 min 后,再将提取液离心( $9\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ )10 min 后取上清液过  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜,作为供试品溶液待用。

#### 1.3.3 标准溶液的配制

分别取约 10.0 mg 绿原酸、茶碱、EGCG、芦丁、槲皮素、表儿茶素、咖啡酸、原儿茶酸、没食子酸和 L-苹果酸,甲醇溶解后定容至 10 mL,得混合标准品溶液。再用甲醇稀释咖啡因对照品溶液至  $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,得咖啡因标准品溶液。吸取稀释后混合标准品溶液、咖啡因标准品溶液、氨基酸混合标准品溶液  $50 \mu\text{L}$ ,用甲醇定容至 5 mL,得混合标准品储备液。制备定量用对照品溶液时,取  $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合标准储备液,用体积比为 2:1 的甲醇-水溶液稀释至 0.5、1、5、10、25、50 和  $100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  系列浓度备用。

#### 1.3.4 分析条件

高分辨质谱定性数据采集。UPLC 条件采用 LC-30AD 超高效液相色谱系统,色谱柱为菲罗门 ACE Super C18( $100 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}, 2.6 \mu\text{m}$ ),流动相为  $2 \text{ mmol} \cdot \text{mL}^{-1}$  甲酸铵(含 0.1%甲酸)(A)-乙腈(B),采用梯度洗脱程序:起始比例 B 相为 15%;1.0~7.0 min 变为 85%,并持续至 9.0 min;9.0~9.5 min, B 相变为 15%,持续至 11.0 min 后停止。体积流量为  $300 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;柱温为  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ,进样体积为  $2 \mu\text{L}$ 。Triple TOF4600 高分辨质谱系统分别采用 ESI-IDA-Positive 和 ESI-IDA-Negative 分析模式,鞘气压力 55 psi,辅助气压力 55 psi,气帘气压力 25 psi,雾化气温度  $600 \text{ }^\circ\text{C}$ ,碰撞气压力为 8 psi,检测电压分别为 5 500 V 和 -4 500 V,动态碰撞能量分别为  $(45 \pm 15) \text{ V}$  和  $(-25 \pm 15) \text{ V}$ 。

三重四级杆质谱定量数据采集。API4000 三重四极杆质谱系统分别采用 ESI-Positive-MRM 和 ESI-Negative-MRM 模式采集(定量分析离子对见表 3),鞘气压力 55 psi,辅助气压力 55 psi,气帘气压力 25 psi,雾化气温度 600 °C,碰撞气压力为 8 psi,检测电压分别为 5 500 V 和-4 500 V,解离电压为 15 V。

表 1 茶叶样品信息

Tab. 1 Sample information of Chongqing green tea

序号	名称	标注产地	地理区域
cha-02	大宁河云雾绿茶	重庆巫溪	渝东北
cha-03	蓬江绿茶	重庆彭水	渝东南
cha-04	中岗毛峰	重庆巫溪	渝东北
cha-06	旺发绿茶	重庆江津	渝西南
cha-07	金宝眉绿茶	重庆梁平	渝东北
cha-08	武陵绿茶	重庆武隆	渝东南
cha-11	钰鑫黄金芽	重庆彭水	渝东南
cha-13	永茶绿茶	重庆永川	渝西南
cha-14	平川毛峰	重庆梁平	渝东北
cha-17	永川秀芽	重庆永川	渝西南
cha-18	花大哥绿茶	重庆秀山	渝东南
cha-19	珍珠兰绿茶	重庆黔江	渝东南
cha-20	云满峰秀芽	重庆涪陵	渝东北
cha-21	苗望养心茶	重庆彭水	渝东南
cha-23	紫芸秀芽	重庆永川	渝西南
cha-24	山城沱茶	重庆綦江	渝西南
cha-25	相思茶	重庆云阳	渝东北
cha-26	古羽早春绿茶	重庆江津	渝西南
cha-27	赤茗天霖云翠	重庆涪陵	渝东北
cha-29	钟灵毛尖	重庆秀山	渝东南
cha-31	山城茉莉花茶	重庆江津	渝西南

### 1.3.5 聚类分析

对获取样品进行 UPLC-Q-TOF/MS 分析,获取样品全扫描数据,通过 One-MAP/PTO 软件平台(大连达硕生物科技有限公司)完成二级质谱提取及峰匹配,应用 peakview 进行鉴定分析,辅以数据匹配缩小研究范围,获取高分辨数据列表;将列表通过 SIMCA (Version 14.5, Umetrics) 进行主成分分析;采用 SIMCA 分析软件中 PLS-DA 进行分析,得到变量投影重要性(variable importance in projection, VIP)值,重点选择 VIP 值大于 1 的变量作为在该模型中贡献显著的成分。综合茶叶的特征性差异成分,采用系统聚类法对茶叶样本进行聚类分析。通过差异分析确定拟选择目标物,通过定量分析进行含量测定,明确不同茶叶样本中差异性化学成分。

### 1.4 数据处理

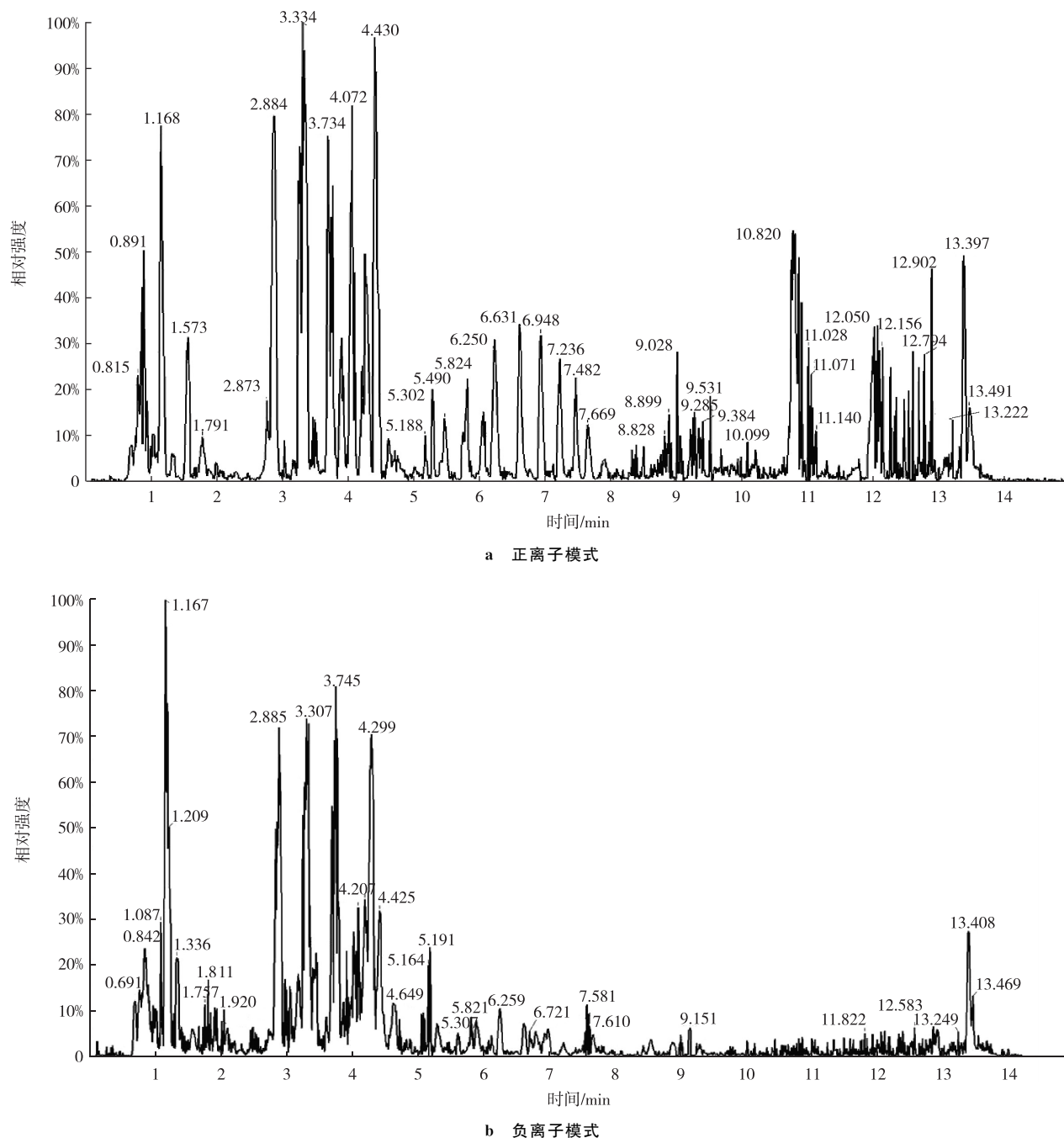
主成分分析结果及定量分析结果均采用 GraphPad Prism 8 (Version 8.0.2, GraphPad) 软件进行数据统计,以原数据为模板进行单因素方差分析和双侧 T-test 检验,当  $p < 0.05$  时,分析结果具有统计学意义;当  $p < 0.01$  时,分析结果具有更强的统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 UPLC-Q-TOF/MS 分析

UPLC-Q-TOF/MS 能够在分析总离子流色谱特征的同时扫描单峰质谱,判断峰内物质的组分<sup>[12]</sup>,获取待分

析样品全扫描数据。采用该技术,供试品溶液和对照品溶液在 1.3.4 节设定的条件下进行检测,并通过正、负离子模式进行分析。茶叶提取物中化学成分的总离子流图如图 1 所示。



注:纵坐标的相对强度通过将各色谱图中峰强度归一化至基峰获得,其中上图和下图的最大峰强度分别以  $1.1 \times 10^6$  和  $2.2 \times 10^6$  为基准进行归一化。该归一化处理用于比较峰分布特征,而非绝对信号强度。

图 1 茶叶样品在不同模式下的分辨率质谱全扫描总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of green tea samples under HR-MS in different modes

结合全扫描分析,通过一级质谱得到准离子峰的相关信息,采用 One-MAP/PTO 软件平台完成二级质谱提取,并进行降噪、解簇和峰匹配,结合 peakview 判断单峰情况进行初筛,保留有 MS2 离子碎片的主要成分,再通过物质的精确分子量、同位素分布比,结合二级质谱的碎片信息和文献数据对比,进行化合物结构推测。通过分析,完成茶叶提取物化学成分的定性分析,共确定出 64 种化合物,结果见表 2。

本研究中共检测出酚类成分 12 种,同时还包括多种氨基酸、维生素、茶碱及还原糖成分。未检出成分有可能是由于含量远低于检出限,如超声提取会对蛋白质等大分子的浸出有抑制作用<sup>[13]</sup>,且不同溶剂、浸提温度、浸

提时间、料液比均会对浸提效果产生影响<sup>[14-15]</sup>,也有可能是样品茶叶中不存在这些成分等。结果表明,检出成分在不同地理来源茶叶中的分布范围较广。

表 2 化学成分分析结果

Tab. 2 Chemical composition analysis results

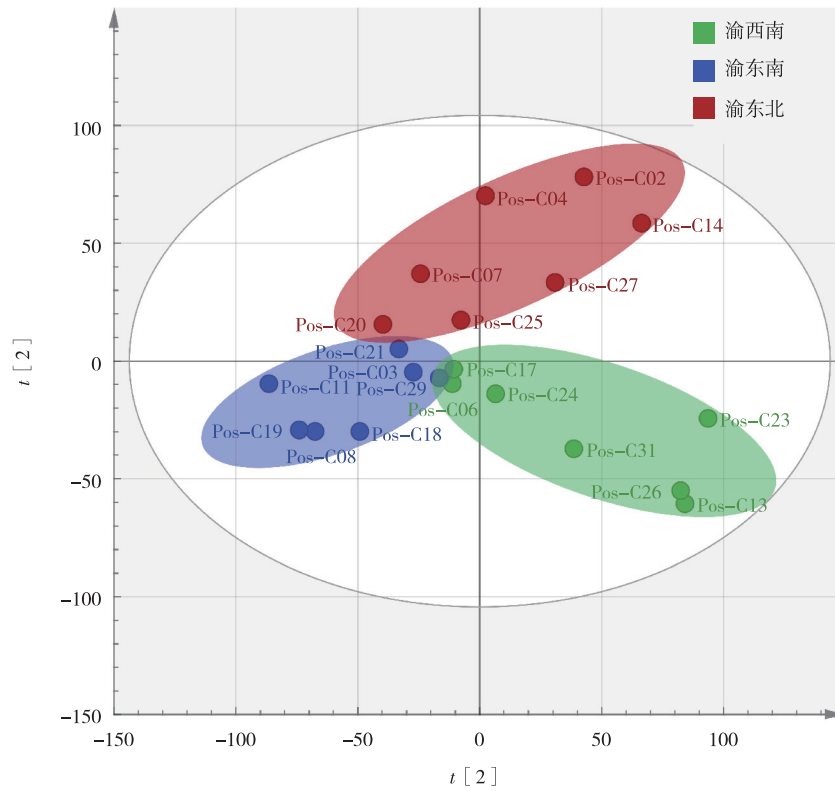
序号	中文名	英文名	化学式	分子量	Pos/ ( $m \cdot z^{-1}$ )	Neg/ ( $m \cdot z^{-1}$ )
Compound-01	咖啡酸	caffeic acid	$C_9H_8O_4$	180.042 26	181.049 54	179.034 98
Compound-02	肉桂酸	cinnamic acid	$C_9H_8O_2$	148.052 43	149.059 71	147.045 15
Compound-03	尿苷	uridine	$C_9H_{12}N_2O_6$	244.069 54	245.076 81	243.062 26
Compound-04	酪氨酸	tyrosine	$C_9H_{11}NO_3$	181.073 89	182.081 17	180.066 62
Compound-05	苯丙氨酸	phenylalanine	$C_9H_{11}NO_2$	165.078 98	166.086 26	164.071 7
Compound-06	丁香酸	syringate	$C_9H_{10}O_5$	198.052 82	199.060 1	197.045 55
Compound-07	对羟基苯乙酸甲酯	methyl 4-hydroxyphenylacetate	$C_9H_{10}O_3$	166.062 99	167.070 27	165.055 72
Compound-08	咖啡因	caffeine	$C_8H_{10}N_4O_2$	194.080 38	195.087 65	193.073 1
Compound-9	杨梅苷	myricitrin	$C_{21}H_{20}O_{12}$	464.095 48	465.102 75	463.088 2
Compound-10	紫云英苷	astragaln	$C_{21}H_{20}O_{11}$	448.100 56	449.107 84	447.093 29
Compound-11	茶碱	theophylline	$C_7H_8N_4O_2$	180.064 73	181.072	179.057 45
Compound-12	棕榈酸	palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	256.240 23	257.247 51	255.232 95
Compound-13	绿原酸	chlorogenic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	354.095 08	355.102 36	353.087 81
Compound-14	可可豆碱	theobromine	$C_7H_8N_4O_2$	180.064 73	181.072	179.057 45
Compound-15	(-)-表没食子酸儿茶素	(-)-epigallocatechin	$C_{15}H_{14}O_7$	306.073 95	307.081 23	305.066 68
Compound-16	儿茶素	catechin	$C_{15}H_{14}O_6$	290.079 04	291.086 31	289.071 76
Compound-17	表儿茶素	epicatechin	$C_{15}H_{14}O_6$	290.079 04	291.086 31	289.071 76
Compound-18	阿福豆素	afzelechin	$C_{15}H_{14}O_5$	274.084 12	275.091 4	273.076 85
Compound-19	二氢杨梅素	dihydromyricetin	$C_{15}H_{12}O_8$	320.053 22	321.060 49	319.045 94
Compound-20	二氢山柰酚	dihydrokaempferol	$C_{15}H_{12}O_6$	288.063 39	289.070 66	287.056 11
Compound-21	香橙素	(+)-aromadendrin	$C_{15}H_{12}O_6$	288.063 39	289.070 66	287.056 11
Compound-22	杨梅素	myricetin	$C_{15}H_{10}O_8$	318.037 57	319.044 84	317.030 29
Compound-23	槲皮素	quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$	302.042 65	303.049 93	301.035 38
Compound-24	山柰酚	kaempferol	$C_{15}H_{10}O_6$	286.047 74	287.055 01	285.040 46
Compound-25	黄酮醇	3-hydroxyflavone	$C_{15}H_{10}O_3$	238.062 99	239.070 27	237.055 72
Compound-26	维生素 B1	vitamin B1	$C_{12}H_{17}ClN_4OS$	300.081 16	301.088 44	299.073 88
Compound-27	没食子酸	gallic acid	$C_7H_6O_5$	170.021 52	171.028 8	169.014 25
Compound-28	色氨酸	tryptophan	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	204.089 88	205.097 15	203.082 6
Compound-29	维生素 B8	vitamin B8	$C_{10}H_{14}N_5O_7P$	347.063 09	348.070 36	346.055 81
Compound-30	鸟苷	guanosine	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	283.091 67	284.098 95	282.084 39
Compound-31	腺苷	adenosine	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	267.096 75	268.104 03	266.089 48
Compound-32	原儿茶酸	protocatechuic acid	$C_7H_6O_4$	154.026 61	155.033 89	153.019 33
Compound-33	胞外多糖	exopolysaccharide	$C_{23}H_{36}O_{18}$	600.190 16	601.197 44	599.182 89
Compound-34	维生素 B11	vitamin B11	$C_7H_6O_3$	138.031 69	139.038 97	137.024 42

续表 2

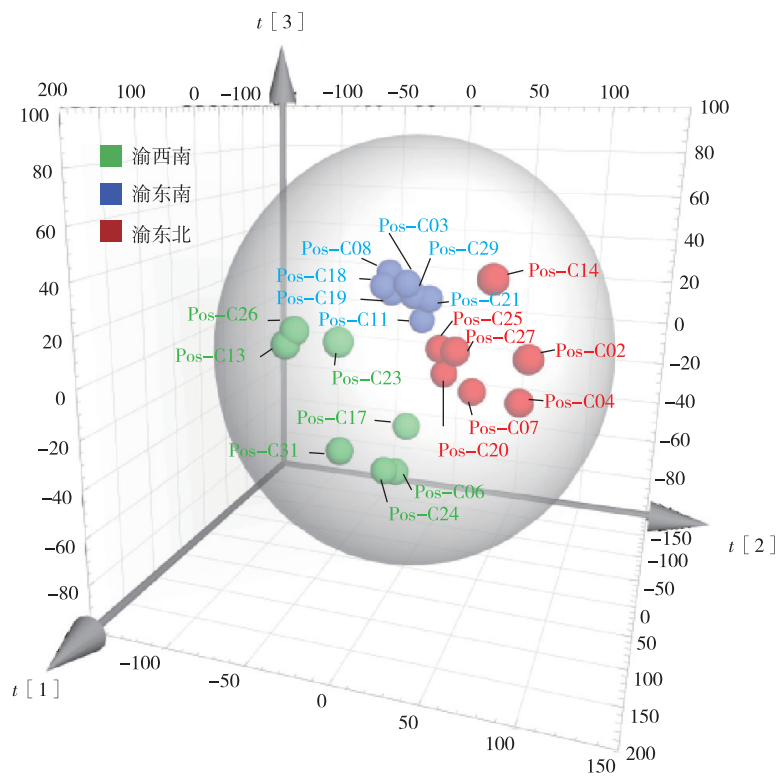
序号	中文名	英文名	化学式	分子量	Pos/ (m · z <sup>-1</sup> )	Neg/ (m · z <sup>-1</sup> )
Compound-35	茶氨酸	L-theanine	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	174.100 44	175.107 72	173.093 17
Compound-36	乙基莽草酸	shikimic acid	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	174.052 82	175.060 1	173.045 55
Compound-37	组氨酸	histidine	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	155.069 48	156.076 75	154.06 22
Compound-38	焦性没食子酸	pyrogallol	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	126.031 69	127.038 97	125.024 42
Compound-39	维生素 PP	vitamin PP	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	123.032 03	124.039 3	122.024 75
Compound-40	鼠李糖	L-rhamnose monohydrate	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	182.079 04	183.086 31	181.071 76
Compound-41	阿洛糖醇	allitol	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	182.079 04	183.086 31	181.071 76
Compound-42	赖氨酸	lysine	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	146.105 53	147.112 8	145.098 25
Compound-43	异亮氨酸	isoleucine	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	131.094 63	132.101 91	130.087 35
Compound-44	亮氨酸	leucine	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	131.094 63	132.101 91	130.087 35
Compound-45	葡萄糖	dextrose	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	180.063 39	181.070 66	179.056 11
Compound-46	甘露糖	mannose	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	180.063 39	181.070 66	179.056 11
Compound-47	肌醇	inositol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	180.063 39	181.070 66	179.056 11
Compound-48	维生素 B-h	vitamin B-h	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	180.063 39	181.070 66	179.056 11
Compound-49	谷氨酸	L-glutamic acid	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	147.053 16	148.060 43	146.045 88
Compound-50	脯氨酸	proline	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	115.063 33	116.070 61	114.056 05
Compound-51	鸟嘌呤	guanine	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> O	151.0494 1	152.056 69	150.042 13
Compound-52	腺嘌呤	adenine	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub>	135.054 5	136.061 77	134.047 22
Compound-53	次黄嘌呤	hypoxanthine	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O	136.038 51	137.045 79	135.031 23
Compound-54	缬氨酸	valine	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	117.078 98	118.086 26	116.071 7
Compound-55	维生素 B14	vitamin B14	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	117.078 98	118.086 26	116.071 7
Compound-56	木糖	DL-xylose	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	150.052 82	151.060 1	149.045 55
Compound-57	阿拉伯糖	L-(+)-ribose	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	150.052 82	151.060 1	149.045 55
Compound-58	天门冬氨酸	aspartic acid	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub>	133.037 51	134.044 78	132.030 23
Compound-59	苹果酸	(±)-malic acid	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	134.021 52	135.028 8	133.014 25
Compound-60	尿嘧啶	uracil	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	112.027 28	113.034 55	111.02
Compound-61	芦丁	rutinum	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	610.153 39	611.160 66	609.146 11
Compound-62	茶多酚	tea polyphenol	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	458.084 91	459.092 19	457.077 64
Compound-63	(-)-表没食子儿茶素 没食子酸酯	EGCG	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	458.084 91	459.092 19	457.077 64
Compound-64	(-)-表儿茶素 没食子酸酯	ECG	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	442.09	443.097 27	441.082 72

## 2.2 主成分分析及相关性分析

为进行三峡库区绿茶的差异分析,结合经峰提取、峰匹配、峰识别等预处理的样品质谱数据,采用 SIMCA 进行 PCA 和 PLS-DA 等多元变量统计分析,建立判别模型<sup>[16]</sup>,探究特征成分与样品地理来源间的相关性。结果见图 2。



a 主成分得分图



b 3D图

图 2 茶叶高分辨质谱全扫描数据 PLS\_DA 图

Fig. 2 The chart of PLS\_DA with HR-MS full scan for green tea

PLS-DA 主要描述了 3 个样本聚类,各区域分别对应样本地理来源的组别,分别为渝西南、渝东南、渝东北。该模型能评估基于不同离子模式建立的代谢组学分类模型的可靠性与预测能力,并以拟合参数( $R^2 X$ 、 $R^2 Y$ )及

交叉验证预测能力参数( $Q^2$ )作为评价指标。结果显示,正离子模式下的模型  $R^2X$  为 0.366,  $R^2Y$  为 0.831,  $Q^2$  为 0.835。其中  $Q^2 > 0.5$  且  $R^2Y$  与  $Q^2$  数值接近具有良好的拟合优度与较强的预测能力,模型质量可靠。综合模型评估结果,本研究选择正离子模式下构建的 PLS-DA 模型作为后续差异代谢物筛选与生物标志物分析的基础。聚类到同一区域则说明样品间相关性较高,性质相似。监督模型将检测样本分为 3 类,且在 3 个区域间存在明显差异,处在同一区域内的各个变量间相关性较强,且相关性随变量间距离变近而增强。结合本结果可见,不同地理来源的茶叶分组效果较好。

经多元统计分析后,通过 PLS-DA 的变量投影重要度分析可知咖啡酸、绿原酸、槲皮素、没食子酸、苹果酸、芦丁、EGCG、咖啡酸、茶碱、表儿茶素、谷氨酸、缬氨酸、天门冬氨酸的 VIP 值均大于 1,是不同地理来源三峡库区绿茶相互判别的主要特征性差异成分,也是对此区分贡献大的 13 个潜在指标成分,有必要进行深入分析。

### 2.3 重要指标成分的定量分析

以质量浓度为  $0.5 \sim 100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合标准系列溶液为样本,以分析物的质量浓度为横坐标( $x$ ),以分析物的定量离子对信号响应峰面积与对应内标物的峰面积之比为纵坐标( $y$ ),绘制标准曲线。每种分析物在  $0.05 \sim 10.0 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内均具有良好线性关系,  $R^2 > 0.999$ 。稀释标准溶液的质量浓度,当信噪比为 10.0 时,即得分析物定量限。结果如表 3。

表 3 HPLC-MS/MS 方法的线性范围、离子对、标准曲线、相关系数和定量限

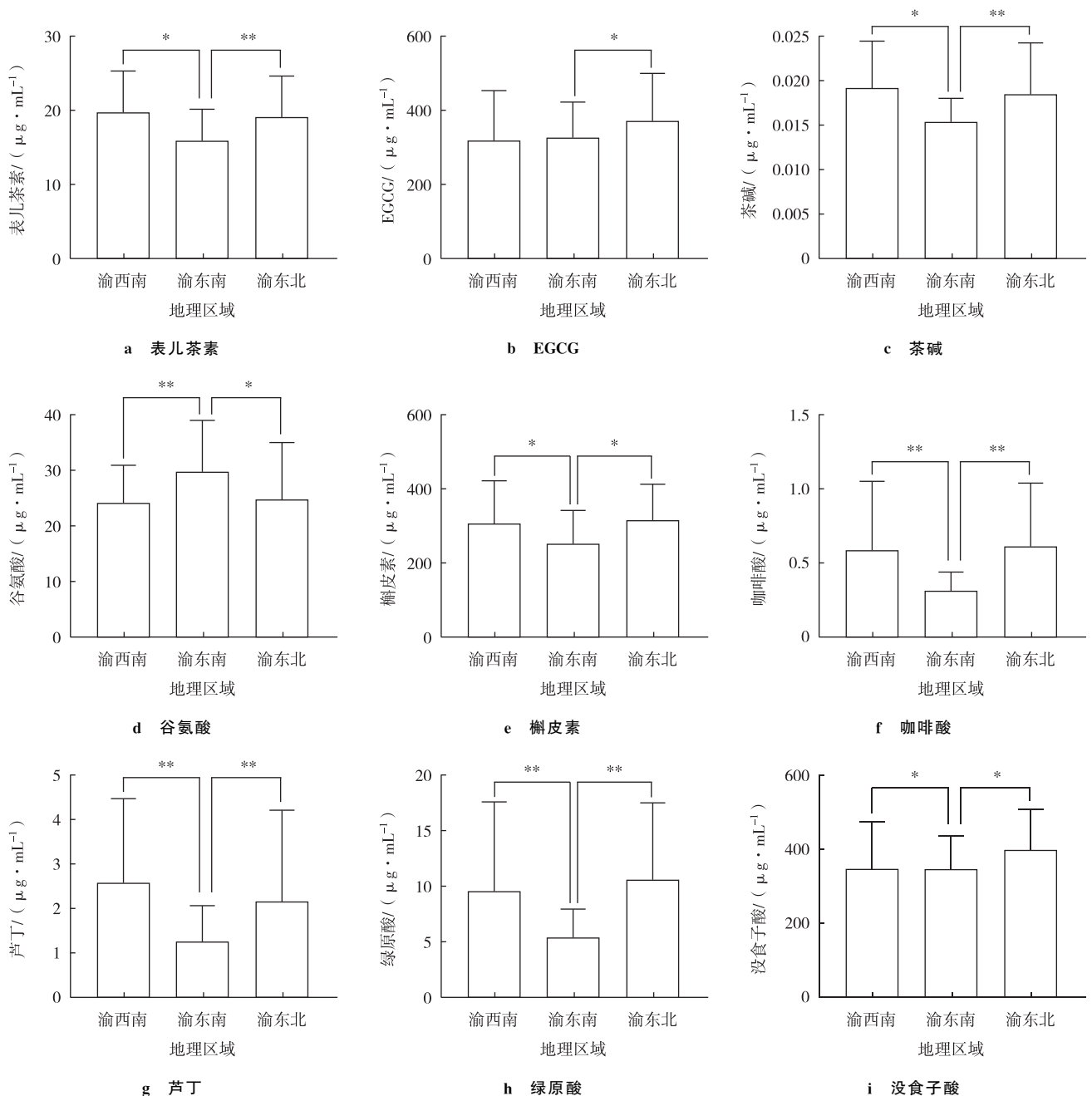
Tab. 3 Linear ranges, ion pair, standard curves, correlation coefficient and limits of quantification of HPLC-MS/MS method

分析物	线性范围/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	离子对	标准曲线	r	定量限/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	离子条件
咖啡酸	0.05~10.0	178.800→135.100	$y=90.58143x-322.61607$	0.99167	50	正离子
绿原酸	0.05~10.0	353.100→191.100	$y=39.53481x-40.53217$	0.98971	50	正离子
没食子酸	0.05~10.0	169.100→125.000	$y=33.91744x+25005.31826$	0.99926	50	正离子
苹果酸	0.05~10.0	132.700→115.000	$y=9.75007x-1433.13493$	0.99630	50	正离子
芦丁	0.05~10.0	609.100→300.000	$y=2.01652x-82.79606$	0.99714	50	正离子
EGCG	0.05~10.0	457.070→169.010	$y=8.69943x+110.02171$	0.99713	50	正离子
咖啡酸	0.05~10.0	195.030→138.050	$y=296.46137x+28263.32178$	0.99820	50	负离子
茶碱	0.05~10.0	181.100→124.000	$y=552.97835x-1909.11922$	0.99652	50	负离子
表儿茶素	0.05~10.0	291.200→139.000	$y=145.80659x+6480.78021$	0.99818	10	负离子
槲皮素	0.05~10.0	303.400→285.000	$y=2.68764x+1959.66911$	0.99883	50	负离子
谷氨酸	0.05~10.0	147.900→84.060	$y=43.22934x+13473.42530$	0.99647	3.8	负离子
缬氨酸	0.05~10.0	118.200→72.1	$y=7189.10527x+8579744$	0.99970	3.8	负离子
天门冬氨酸	0.05~10.0	134.050→8.040	$y=109.28102x+10192.17874$	0.99878	3.8	负离子

总结定性分析结果的聚类分析,结合潜在差异成分的定量分析结果,最终确定表儿茶素、EGCG、茶碱、谷氨酸、槲皮素、咖啡酸、芦丁、绿原酸和没食子酸为造成差异的特征成分,其余 4 种化合物的差异不具有统计学意义。各组间特征性差异成分含量关系见图 3。

以表儿茶素为例,渝西南与渝东南样本组含量差异具有统计学意义,渝东南与渝东北样本组含量差异具有更强的统计学意义。渝东南样本组的差异物含量与另外 2 组差异具有统计学意义,总体呈现独高或独低的情况。渝东南组茶碱含量明显低于另外组别,而茶碱是茶叶苦味的主要呈味物质,因此,该区域绿茶产品应口味更为清苦。同时,茶碱具有扩张支气管、利尿和兴奋中枢神经系统的作用,常用于治疗哮喘<sup>[17]</sup>,有研究表明甲状腺素浓度与全身茶碱清除率存在关联<sup>[18]</sup>,这对哮喘及甲状腺功能低下的消费者茶叶选品具有参考意义。但该组绿原酸、咖啡酸、芦丁含量也最低,抗氧化性、抗炎、降糖作用相对较弱<sup>[19]</sup>。渝东南组茶叶的谷氨酸含量大于其余样本,谷氨酸是重要的神经递质,参与多种生理过程,有助于改善认知功能和情绪调节<sup>[20]</sup>;它还与茶汤的甜鲜味有关<sup>[21]</sup>,甜味氨基酸还能掩盖苦涩味。表儿茶素作为茶叶中主要的儿茶素之一,具有苦涩味,对茶汤的整体口感有

重要影响<sup>[22]</sup>,在渝东南组含量最低,提示该组茶叶可能具有低苦涩性;在渝西南组含量最高,在有效减少自由基损伤、降低心血管疾病以及改善胰岛素敏感方面具有更大的潜能<sup>[23]</sup>。



注: \* 为  $p < 0.05$ , \*\* 为  $p < 0.01$ 。

图 3 差异产物分析结果柱状图

Fig. 3 Histogram of analysis results of different products

同时,没食子酸、EGCG 等也是影响感官、滋味和品质的因素,这在不同地理来源的茶叶所拥有的各异口感上得以验证<sup>[24-25]</sup>。

### 3 讨论

本研究采用高分辨质谱法表征和确认化学成分,结合多元统计分析和含量测定对渝系绿茶进行成分分析和地理性差异分析,为更好地开发茶叶资源、保障优良品种茶产品品质及选育提供理论参考和评价方法。

UPLC-Q-TOF/MS 法全面、高效,共筛选出样本所含的 64 种化合物纳入后续分析。PLS-DA 结果表明,茶

叶样本能根据不同地理来源分为渝西南、渝东南、渝东北 3 个类群,这种区域划分不仅反映了三峡库区内部地理环境的多样性,还为研究不同区域绿茶品质差异提供了基础。通过分析各区域茶叶的关键成分,能够精准定位产区特色,助力区域品牌建设,推动茶产业精细化发展,同时为乡村振兴和区域经济差异化发展提供科学支撑。其中,13 个化合物对此分类有高贡献。根据定量分析统计结果最终确定了 9 个造成差异的特征成分,分别为表儿茶素、EGCG、茶碱、谷氨酸、槲皮素、咖啡酸、芦丁、绿原酸和没食子酸。

过往研究表明,茶树次生代谢物的积累对环境因子高度敏感,其中气候、海拔和土壤条件被认为是造成地域性品质差异的关键驱动因素<sup>[26]</sup>。三峡库区因地形复杂、水热条件多样,不同方位区域的茶叶品质呈现出明显的差异化特征。部分地区处于富硒带,已有研究显示土壤硒含量与茶叶中有机硒水平密切相关,并可能进一步影响氨基酸及香气前体的代谢<sup>[27]</sup>。三峡库区西南区域则以坡向差异和土壤异质性为重要特征,迎风坡与背风坡在水热条件上存在明显差别,从而影响土壤有机质及有效养分分布<sup>[28]</sup>。与此同时,土壤中钾、镁含量被证实可直接调控游离氨基酸与儿茶素的代谢平衡,进而塑造茶叶滋味特征<sup>[29]</sup>。因此,该区域茶叶品质往往表现出较高的可变性。

茶叶化学成分的差异源于多重环境因子的综合作用,这些因子的交互不仅塑造了茶树次生代谢物的积累模式,也决定了感官品质的区域性特征。未来若能结合代谢组学与环境监测开展系统研究,有望进一步揭示“环境—代谢—品质”的耦合机制,为地域特色茶叶的品质认证与产品溯源体系的建立提供坚实的科学依据。本研究的结果为茶叶品质认证和茶叶产品溯源系统研究提供了新的研究思路 and 理论参考,但仍存在样本代表性和方法学上的局限性,有关地理区域对茶叶化学成分组成和含量的影响还需要进一步研究,以深入阐明地理环境对茶叶化学成分的影响。因此,后续研究需在更大尺度和多因子控制条件下,深入探讨环境因子与代谢调控的关系,从而更好地实现对绿茶产地的精准溯源。

#### 参考文献:

- [1] 于猛,李颂.地理标志茶叶产品标准的现状,问题和建议[J].中国茶叶,2024,46(3):60-65.  
YU M,LI S.Current status,issues,and suggestions of geographical indication product standards for tea[J].China Tea,2024,46(3):60-65.
- [2] 虞昕磊.鲜叶摊放方式对绿茶色、香、味品质成分代谢的影响研究[D].武汉:华中农业大学,2020.  
YU X L.Study on the influence of fresh leaves spreading methods on the metabolism of color,aroma and taste quality components of green tea [D].Wuhan:Huazhong Agricultural University,2020.
- [3] 孙晓荣,胡毅然,刘翠玲,等.基于近红外光谱技术的茶叶新旧鉴别及产地溯源研究[J].食品安全质量检测学报,2023,14(5):53-59.  
SUN X R,HU Y R,LIU C L,et al.Identification of new and old tea and origin traceability based on near infrared spectroscopy [J].Journal of Food Safety and Quality,2023,14(5):53-59.
- [4] 刘洪林,张凯,黎娇,等.基于咖啡碱和氨基酸中碳氮稳定同位素比率的茶叶地理溯源[J].食品科学,2022,43(20):352-360.  
LIU H L,ZHANG K,LI J,et al.Geographical traceability of tea based on carbon and nitrogen stable isotope ratios in caffeine and amino acids[J].Food Science,2022,43(20):352-360.
- [5] 徐邢燕.基于代谢组学的武夷肉桂茶不同烘焙程度,等级及地域品质差异研究[D].福州:福建农林大学,2020.  
XU X Y.Metabonomics-based study on the difference of different baking degree,grade and regional quality of wuyi cinnamon tea [D].Fuzhou:Fujian Agriculture and Forestry University,2020.
- [6] 周鹏.基于多平台组学策略的茶叶溯源鉴别技术研究[D].南京:南京理工大学,2019.  
ZHOU P,Research on tea traceability identification technology based on multi-platform omics strategy [D].Nanjing:Nanjing University of Science and Technology,2019.
- [7] 郭延坐,张小梅,龙成燕,等.大环双内酯雷公藤生物碱高分辨质谱数据库的建立与应用[J].药物分析杂志,2021,41(3):377-383.  
GUO Y L,ZHANG X M,LONG C Y,et al.Construction and application of HR-MS-database of macrocyclic dilactone skeleton alkaloids in Tripterygium[J].Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis,2021,41(3):377-383.
- [8] 牛生洋,刘崇怀,刘强,等.葡萄种质果实有机酸组分及其含量特性[J].食品科学,2022,43(12):228-234.  
NIU S Y,LIU C H,LIU Q,et al.Composition and contents of organic acids in different grape germplasm[J].Food Science,2022,43(12):228-234.

- [9] 胡燕珍,张媛媛,黄斌,等. 基于系统聚类和 PLS 回归分析的栝楼种子等级综合评判研究[J]. 现代中药研究与实践,2024,38(2):1-5.  
HU Y Z,ZHANG Y Y,HUANG B,et al. Study on comprehensive evaluation of the seed grade of trichosanthes kirilowii maxim. based on hierarchical cluster analysis and PLS regression[J]. Research and Practice on Chinese Medicines,2024,38(2):1-5.
- [10] BEATTIE J R,ESMONDE-WHITE F W L. Exploration of principal component analysis;deriving principal component analysis visually using spectra[J]. Applied Spectroscopy,2021,75(4):361-375.
- [11] 冷洪旭,何静,高荣生,等. 基于最大熵模型的重庆市茶叶种植适宜性研究[J]. 广东蚕业,2022,56(9):19-22.  
LENG H X,HE J,GAO R S,et al. Study on suitability of tea planting in Chongqing based on maximum entropy model[J]. Guangdong Sericulture,2022,56(9):19-22.
- [12] 韩苏日古嘎,乌日拉嘎,杨立国. UPLC-Q-TOF-MS 法分析大青叶入血成分及其代谢产物[J]. 中成药,2025,47(2):487-496.  
HAN S,WU R,YANG L G. Analysis of constituents absorbed into blood and their metabolites from the leaves of Isatidis Folium by UPLC-Q-TOF-MS[J]. Chinese Traditional Patent Medicine,2025,47(2):487-496.
- [13] 夏涛,时思全,宛晓春. 微波、超声波对茶叶主要化学成分浸提效果的研究[J]. 农业工程学报,2004,20(6):170-173.  
XIA T,SHI S Q,WAN X C. Effects of microwave and ultrasound assisted extraction of main chemical components of tea[J]. Transactions of The Chinese Society of Agricultural Engineering,2004,20(6):170-173.
- [14] 彭文毫. 茶叶中多酚浸提工艺中溶剂的选择研究[J]. 广东化工,2012,39(11):71-72.  
PENG W H. The choice research of solvent on the soaking of the tea polyphenol[J]. Guangdong Chemical Industry,2012,39(11):71-72.
- [15] 吴咏芳,王瑶,刘芬. 绿茶茶汤浸提工艺的优化探究[J]. 南方农业,2020,14(29):154-157.  
WU Y F,WANG Y,LIU F. Optimization of extraction technology of green tea soup[J]. South China Agriculture,2020,14(29):154-157.
- [16] 郝勇,孙旭东,高荣杰,等. 基于可见/近红外光谱与 SIMCA 和 PLS-DA 的脐橙品种识别[J]. 农业工程学报,2010,26(12):373-377.  
HAO Y,SUN X D,GAO R J,et al. Application of visible and near infrared spectroscopy to identification of navel orange varieties using SIMCA and PLS-DA methods[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering,2010,26(12):373-377.
- [17] 周安文. 茶碱类药物在治疗哮喘及慢性阻塞性肺疾病中的作用[J]. 中国保健营养,2018,28(25):47.  
ZHOU A W. The role of theophylline drugs in the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease [J]. China Health Care & Nutrition,2018,28(25):47.
- [18] VOZEH,S,OTTEN M,STAUB J J,et al. Influence of thyroid function on theophylline kinetics[J]. Clinical Pharmacology and Therapeutics,1984,36(5):634-640.
- [19] DU K Z,LI J,WANG L H,et al. Biosurfactant trehalose lipid-enhanced ultrasound-assisted micellar extraction and determination of the main antioxidant compounds from functional plant Tea[J]. Journal of Separation Science,2020,43(4):799-807.
- [20] 李大祥,鲜殊,杨卫,等. 茶叶的神经保护作用研究进展[J]. 茶叶科学,2011,31(2):79-86.  
LI D X,XIAN S,YANG W,et al. Progress on the neuroprotective effects of tea[J]. Journal of Tea Science,2011,31(2):79-86.
- [21] 徐茂,刘玲,童华荣. 鲜味及茶叶鲜味研究[J]. 茶叶,2010,36(2):84-86.  
XU M,LIU L,TONG H R. Studies on the umami taste of tea[J]. Journal of Tea,2010,36(2):84-86.
- [22] 张英娜,陈根生,刘阳,等. 烘青绿茶苦涩味及其滋味贡献物质分析[J]. 茶叶科学,2015,35(4):377-383.  
ZHANG Y N,CHEN G S,LIU Y,et al. Analysis of the bitter and astringent taste of baked green tea and their chemical contributors[J]. Journal of Tea Science,2015,35(4):377-383.
- [23] SANO T,NAGAYASU S,SUZUKI S,et al. Epicatechin downregulates adipose tissue CCL19 expression and thereby ameliorates diet-induced obesity and insulin resistance[J]. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases,2017,27(3):249-259.
- [24] QIAN B J,LIU J H,ZHAO S J,et al. The effects of Gallic/ferulic/caffeic acids on colour intensification and anthocyanin stability[J]. Food Chemistry,2017,228:526-532.
- [25] MA C Q,MA B S,WANG J C,et al. Geographical origin identification of chinese white teas, and their differences in tastes, chemical compositions and antioxidant activities among three production regions[J]. Food Chemistry:X,2022,16:100504.
- [26] AHMED S,GRIFFIN T S,KRANER D,et al. Environmental factors variably impact tea secondary metabolites in the context

- of climate change[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10:939.
- [27] 莫秋云,包秘,唐昭领,等. 茶叶中硒及重金属含量与土壤的关系研究[J]. *中国茶叶*, 2024, 46(12):48-53.  
MO Q Y, BAO M, TANG Z L, et al. Study on the relationship between selenium and heavy metal content in tea and soil [J]. *China Tea*, 2024, 46(12):48-53.
- [28] IANG J, RAO S, CHEN Q W, et al. Research progress on the effects of selenium on the growth and quality of tea plants[J]. *Plants*, 2022, 11(19):2491.
- [29] 阮建云,吴洵. 钾、镁营养供应对茶叶品质和产量的影响[J]. *茶叶科学*, 2003, 23(S1):21-26.  
RUAN J Y, WU X. Productivity and quality response of tea to balanced nutrient management including K and Mg[J]. *Journal of Tea Science*, 2003, 23(S1):21-26.

## Resources, Environment and Ecology in Three Gorges Area

### Analysis of Characteristic Compounds of Green Tea from Three Gorges Reservoir Area Based on Multivariate Statistical Analysis and Full Scan of Chemical Composition

QIN Caiyi<sup>1</sup>, GUO Yanlei<sup>2</sup>, LONG Chengyan<sup>2</sup>, ZHANG Li<sup>2</sup>, BAI Yamin<sup>3</sup>, ZHANG Lei<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331;

2. Chongqing Institute of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400065;

3. Chongqing Institute for Food and Drug Inspection and Testing, Chongqing 401121, China)

**Abstract:** In order to distinguish and protect the tea products of origin, this study established a method of tea composition difference analysis based on mass spectrometry full scanning combined with systematic clustering. Green tea from Three Gorges Reservoir Area was chosen to be the research object. High-performance liquid chromatography tandem high-resolution mass spectrometry was used for chemical full-scan analysis, and 65 chemical components of tea were confirmed; combining principal component analysis and partial least squares method, a correlation analysis model of geographical origin and component correlation of tea was established. 13 feature components related to geographical information were screened. Through further quantitative analysis, it is finally determined that epicatechin, EGCG, theophylline, glutamate, quercetin, caffeic acid, rutin, chlorogenic acid and gallic acid have a good distinction among the selected tea from different geographical sources. This method is efficient, stable and specific, and provides a supplement for the study of the material basis and geographical traceability of tea products.

**Keywords:** ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; principal components analysis; partial least squares discriminant analysis; triple quadrupole mass spectrometry; cluster analysis; green tea

(责任编辑 陈新颖)