

戴宇樵,吕才有. 代谢组学技术在茶学中的应用研究进展[J]. 江苏农业科学,2019,47(2):24-28.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.02.005

代谢组学技术在茶学中的应用研究进展

戴宇樵, 吕才有

(云南农业大学, 云南昆明 650200)

摘要:代谢组学是通过考察生物体在受到外界干扰或者刺激后,其代谢产物变化情况或随时间的变化情况来研究生物体系的一门学科。代谢组学作为组学技术中一门新兴发展的学科,已经成为揭示生物体系变化规律的重要手段,在微生物学、植物学和营养学及医学等多个方面得到广泛运用。对代谢组学这门学科的基本概念、技术分析手段组成等进行简要概述,介绍代谢组学中的检测技术在茶学中栽培、加工、功效及品质控制等领域的应用研究进展,并对代谢组学技术在未来茶产业中的运用展开讨论。

关键词:代谢组学;质谱;色谱;核磁共振;GC-MS;茶学研究;茶叶鉴定

中图分类号: TS272 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)02-0024-05

组学(omics)定义为组的组成、结构、功能及各组分之间相互作用和联系的一门学科,主要包括基因组学(genomics)、转录组学(transcriptomics)、蛋白质组学(proteomics)和代谢组学(metabolomics)。组学技术(omics technology)是整合基因组学、转录组学、蛋白质组学和转录组学的研究思路和方法,动态地揭示系统结构、功能相互作用和运行规律的技术^[1]。

收稿日期:2018-04-09

基金项目:国家茶产业技术体系建设专项(编号:K170012)。

作者简介:戴宇樵(1994—),女,贵州贵阳人,硕士研究生,主要从事茶叶加工与品质控制研究。E-mail:827927867@qq.com。

通信作者:吕才有,博士,教授,主要从事茶叶加工、茶叶综合利用及茶标准等方面的教学与研究工作。E-mail:2495846526@qq.com。

组学技术发展至今,已经在营养学、药学、植物学等研究中得到广泛应用。

1 代谢组学概述

随着生命科学的发展,代谢组学成为继转录组学、蛋白质组学后兴起的一种组学技术。与其他组学技术不同,代谢组学是通过考察生物体在受到外界干扰或者刺激后,其代谢产物变化情况或随时间的变化情况来研究生物体系的一门学科^[2]。将组群指标作为分析变化的基础,用高通量检测方法和多元数据处理将信息建模与系统结合起来,从而对生物体的代谢产物进行定性定量分析^[3]。与蛋白质或 DNA 等生物高分子相比,代谢组学的研究对象一般是小分子,分子质量通常在 1 000 以下。代谢组学具有关注内源性化合物的特点,能够对生物体系中的小分子化合物进行良好的定性定量研

lignin - a new concept to produce N - modified lignin[J]. Indian Forester,2000,126(6):643-646.

[39]姜伟童,苏玲,于森,等. 甲醛交联碱木质素-聚乙烯醇-尿素薄膜氮元素缓释性能研究[J]. 林产化学与工业,2015,35(3):28-32.

[40]马艳丽,王儒儒,方桂珍,等. 聚丙烯酸接枝碱木质素基铁肥的制备及其缓释性能[J]. 农业工程学报,2012,28(18):208-214.

[41]Wen P, Han Y J, Wu Z, et al. Rapid synthesis of a corn cob - based semi - interpenetrating polymer network slow - release nitrogen fertilizer by microwave irradiation to control water and nutrient losses[J]. Arabian Journal of Chemistry,2017,10(7):922-934

[42]De la Rosa J M, Liebner F, Pour G, et al. Partitioning of N in growing plants, microbial biomass and soil organic matter after amendment of N - ammonoxidized lignins[J]. Soil Biology & Biochemistry,2013(60):125-133.

[43]Wang Y, Jian L, Chen X Y. Biodegraded and polyurethane drape - formed urea fertilizer[J]. Journal of Wuhan University of Technology (Materials Science),2005,20(2):12-14.

[44]Matyjaszewski K. Atom transfer radical polymerization (ATRP): current status and future perspectives[J]. Macromolecules,2012,45

(10):4015-4039.

[45]Wang J F, Yao K J, Korich A L, et al. Combining renewable gum rosin and lignin: towards hydrophobic polymer composites by controlled polymerization[J]. Journal of Polymer Science Part A Polymer Chemistry,2011,49(17):3728-3738.

[46]Ramirez F, Varela G, Delgado E, et al. Reactions, characterization and uptake of ammoxidized kraft lignin labeled with ¹⁵N[J]. Bioresource Technology,2007,98(7):1494-1500.

[47]王德汉,彭俊杰,廖宗文. 木质素改性产物对钾肥的缓释作用与作物吸钾量的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2003,9(3):308-311.

[48]Yang L X, Yang Y, Chen Z, et al. Influence of super absorbent polymer on soil water retention, seed germination and plant survivals for rocky slopes eco - engineering[J]. Ecological Engineering,2014,62(3):27-32.

[49]Hussain Z, Ramli N K, Mansor N, et al. Lignin modified urea fertilizer's biodegradation and nitrogen release under reduced soil condition[J]. Applied Mechanics & Materials,2015(699):981-987.

[50]Boerjan W, Ralph J, Baucher M. Lignin biosynthesis[J]. Annual Review of Plant Biology,2003,54(1):519.

究,化合物的微量变化都指示了与疾病、毒性、基因修饰或环境因子有关,内源性化合物的变化结论还具有可运用到药物开发研究等领域的特点^[4]。基因和蛋白质具有相对严格的细胞特异性,而同一代谢物在任何物种中都具有相同的理化性质。

在 20 世纪 70 年代初,贝勒医学院(Baylor College of Medicine)就开展了代谢轮廓分析,主要是指用气象色谱-质谱(GC-MS)方法对有机酸、固醇及尿中药物代谢物进行分析,之后代谢轮廓分析方法被广泛应用于尿、血等生物样本中代谢物的定性分析与定量分析,此种对疾病进行筛选和诊断的方法延用至今^[4]。进入 20 世纪 80 年代后,人们开始使用核磁共振和高效液相色谱技术来进行代谢轮廓的分析^[5-6]。1997 年,Oliver 研究小组通过对酵母基因的遗传功能分析,运用对代谢产物的数量来定性评估的方法,率先提出了代谢组学的概念^[7]。1999 年,Nicholson 等提出了代谢组学的概念^[8]。2000 年,Fiehn 等提出了另一种代谢组学的概念,将生物体的代谢产物和生物基因功能联系起来,全面、定量分析生物体系中所有代谢物,并将其应用于植物学研究,指出每种基因型都具有一种独特的代谢轮廓^[9]。正在高速发展的代谢组学,已经成为人类揭示生命现象变化规律的重要手段。

2 代谢组学研究技术

代谢组学研究需要高通量、高灵敏度且稳定性好的分析方法。目前,主要分析手段包括核磁共振(NMR)、液相色谱-质谱联用(LC-MS)、毛细管电泳-质谱联用(CE-MS)以及气象色谱-质谱等技术。

2.1 气象色谱-质谱技术

气象色谱是自 1952 年问世以后运用较为广泛的一种分离分析技术^[10]。相对于其他代谢组学分析技术来说,GC-MS 是代谢组学研究中最先应用的分析技术之一^[11]。GC-MS 适合分析低沸点、低极性的挥发性代谢物或者非挥发性代谢物,如氨基酸等衍生后成为具有挥发性的物质。由于重现性好、分辨率高、灵敏度高,具有大量标准代谢物谱图库,且仪器购置价格相对其他方法较低等特点,GC-MS 是目前代谢组学的主要分析平台之一。GC-MS 的主要不足是不符合要求的样品须要进行衍生化处理后才能够进行分析,比如难挥发或极性较大的代谢产物^[4]。气象色谱能有效地分离复杂混合物,质谱能对这些化合物进行检测,两者的结合使 GC-MS 联用仪重现性好,性能稳定。

2.2 液相色谱及液相色谱-质谱联用技术

由于液相色谱的高分辨能力、质谱的高灵敏度及其联用后所带来的信息量提高,液相色谱及 LC-MS 技术在代谢组学分析手段中占据较大比例。高效液相色谱具有分析速度快、检测灵敏度高、分离效能高和应用范围广的特点,与气相色谱相比,更适用于大分子、高沸点和热稳定性差的化合物的分离分析。目前,只有少部分样品可以不经预处理就能够很好地进行气相色谱分离^[12]。近年来,LC-MS 技术也得到了高速的发展,采用这种方法,可以简化样品的预处理,缩短对靶标化合物进行检测的时间,能够同时分析复杂基质中结构相似的化合物,同时还可以对生物样品中已知或未知的化合物进行测定。

2.3 超高效液相色谱-质谱技术

随着液相色谱分析对象的复杂化,高效液相色谱(HPLC)也须要做出更多的改进。超高效液相色谱与液相色谱相比,首先在分离性上有一定优势,分离度、分离速度、灵敏度、高背压明显提高;同时超高效液相色谱(UPLC)有更好的峰容量、灵敏度及分离效率,提供与质谱联用更适合的接口,使更多的代谢物更容易被检出,方法通量、灵敏度提高,能改善与质谱联用定性定量的分析结果。超高效液相色谱与质谱联用能为代谢组学研究提供更灵敏、更高效的平台。

2.4 毛细管电泳-质谱联用技术

毛细管电泳技术诞生于 20 世纪 80 年代的液相分离分析技术,以高压直流电场为驱动力、以毛细管为分离通道,并且将现代微柱分离技术与经典电泳技术高效结合。在代谢组学分析样品中含有许多离子性代谢物,如核苷酸、羧酸等,这些离子性代谢物不容易在反相色谱柱上停留,因技术原因不适合与质谱联用,因此 HPLC-MS 不适合离子性代谢物的分析。而毛细管电泳利用离子化合物荷质比不同来形成不同的迁移速率从而实现分离,因此 CE-MS 特别适合分析离子性代谢物^[4]。1978 年,CE-MS 技术被首次报道^[13]。之后又分别建立了阳离子代谢物、阴离子代谢物及多价阴离子代谢物的 CE-MS 分析方法^[14-16]。

2.5 核磁共振技术

核磁共振技术是一种基于具有自旋性质的原子核在核外磁场作用下,吸收射频辐射而产生能级跃迁的谱学技术。生命科学领域中常用的是氢谱(¹H NMR)、碳谱(¹³C NMR)及磷谱(³¹P NMR)3 种,可用于体液或组织提取液和活体分析两大类,其中以¹H NMR 应用最为广泛^[3]。从 1924 年开始,有研究团队预测到某些原子核具有自旋角动量和磁矩,由此产生了关于 NMR 早期的理论基础,到了 20 世纪 90 年代初,高场核磁共振波谱仪相继问世,直到现在高场核磁共振、超低温探头及色谱和核磁共振联用等技术得到了广泛应用^[11]。这种相对较新的组学技术利用生物体液核磁共振谱图所提供的生物体内全部小分子代谢物的丰富信息,然后对这些信息进行多元统计分析和模式识别处理,发现相关生物体在药理毒理学、功能基因组学等方面的状况及动态变化和它们所要揭示的生物学意义,并从分子水平来认识生命运动的规律。

3 代谢组学在茶学研究中的应用

随着人们日常生活对茶叶需求量的增加,对茶叶品质要求以及安全性的要求也越来越高,科学研究技术的快速发展使检测改善茶各方面品质的手段越来越多,检测范围也越来越全面,在茶叶的内含物质、香气、色泽以及农残等方面都有了较为成熟的检测方法。植物代谢组学是代谢组学的一个重要分支,是对植物的某一组织或细胞在特定生理时期内所有低分子量代谢产物同时进行定性和定量分析^[17]。目前,代谢组学技术也已被大量运用到茶产业的各个环节中,利用代谢组学可以更全面地了解茶叶从栽培到加工再到品饮过程中内含物质的变化规律,揭示茶叶风味形成的原因,健全茶叶安全性保障。

3.1 代谢组学在茶树栽培生长中的应用

茶树栽培从最根本上决定了茶叶品质的好坏,在茶树栽

培和生长过程中利用代谢组学能更好地解决茶树生长发育过程中的品质及安全性问题。在了解优化茶树客观生长环境方面,郝亚利用不同的光质对茶鲜叶进行处理,并用 GC-MS、HPLC 进行检测,主成分分析(PCA)、偏最小二乘(PLS)方法进行数据处理,最后发现,不同叶龄的茶鲜叶有机相成分差异较大,并且用不同的光质进行处理结果也会不同^[18]。在茶树农残与微量元素等控制检测中,代谢组学也发挥了很大的作用。田艳玲等用高效液相色谱-串联四极杆质谱联用技术检测了茶叶中多菌灵的残留量^[19]。王凯研究了茶树栽培中不同形态的氮素对茶叶氮代谢中有效内含物质的多方面影响,从茶树生长过程中元素的变化角度来探究茶叶品质的形成原因,为之后茶园的施肥管理提供了理论依据^[20]。运用 GC-MS 检测技术和 PCA 数据分析,为茶树的合理施肥以及茶叶的品质调控奠定了一定基础。王敏等用 GC-MS 与 LC-MS 技术检测了茶叶中的农残含量^[21-22]。贾玮等利用 LC-MS 技术建立了鉴定茶叶中 290 种农药的多残留分析方法^[23]。王丽霞等研究了不同氟浓度处理对茶叶内含物质和香气成分的影响,结果发现,氟处理对儿茶素类、咖啡碱含量有消极影响,GC-MS 分析得出不同浓度的氟处理对香气成分影响变化也会不同^[24]。韩璐等采用超高效液相色谱-串联质谱技术对茶叶中的农残进行了快速筛查^[25]。代谢组学在茶树栽培生长中含物质与特殊有毒物质的检测方面也有较多运用。李春芳在研究茶树中次生代谢产物的合成及基因表达中运用 GC-MS 技术检测分析不同时期茶树中叶绿素的含量^[26]。罗学平等运用固相微萃取结合气相色谱-质谱(SPME-GC/MS)联用技术来检测不同茶树品种中的茶叶香气以及茶花的香气^[27-28]。冯德建等针对茶叶中出现的高氯酸盐污染问题,建立液相色谱-串联质谱联用仪测定方法,更高效、准确地测定了高氯酸盐含量^[29]。何正和等运用 GC-MS 技术快速测定了茶叶中的蒽醌^[30]。米雨荷运用 UPLC 技术检测了茶叶中的生物胺含量,为解决茶树栽培过程中遇到的问题提供了一定的技术支撑^[31]。赖国银等采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(Q-TOF/MS)技术定性分析了茶叶籽中的酚类化合物,发现此种方法快速、准确、可靠;从栽培环节对内含物质含量实施全面检测,使接下来茶叶品质的形成得到了最根本的保障^[32]。在其他方面,代谢组学也能够探索茶树栽培中的更多新品种、新方法。龚雪等为更好地开发和利用黔茶新品种,采用顶空固相微萃取气-质联用法(HS-SPME/GC-MS)分析不同黔茶品种与福鼎大白茶绿茶的挥发性成分,为更好地开发和利用黔茶新品种奠定了理论基础^[33]。

3.2 代谢组学在茶叶品种分类鉴别中的应用

运用代谢组技术可以更准确地鉴定茶树、茶叶品种,为茶产业的各个环节提供更精准的理论基础,并且在绿茶、红茶、乌龙茶、白茶及普洱茶中都得到了良好的运用。王丽鸳等运用代谢组学中建立化学指纹模式图谱分析方法对浙江杭州、丽水等多个地区的不同品种绿茶和武夷岩茶等茶类进行代谢组学分析得出,采用化学指纹图谱方法结合判别技术对茶叶的品种与产地进行合理鉴别或验证分析多种茶类品种是可行的^[34-38]。李万春用衍生化 GC-MS 方法对绿茶、白茶、乌龙茶及红茶进行代谢组学研究,分析结果表明,4 种不同的茶叶

在不同发酵程度下代谢组学分析结果有明显差异^[39]。吕海鹏等运用 GC-MS 检测挥发性成分来比较不同等级普洱茶的化学成分及抗氧化活性^[40]。徐欢欢等通过高效液相色谱法测定不同红茶中 γ -氨基丁酸(GABA)、L-茶氨酸和 L-谷氨酸含量,为后期的试验提供了精准的理论基础^[41]。贺群等采用 GC-MS 来测定茶鲜叶中的香气成分与含量,研究结果为不同香型的适制绿茶品种和其他特殊要求品种的选育提供了理论依据^[42]。

3.3 代谢组学在茶叶加工工艺优化中的应用

加工工艺是影响茶叶品质的重要环节,目前简单的常规检测还不能够在加工线上或线下全面探索工艺与品质的关系,代谢组学分析方法可以更深入地了解茶叶在加工过程中所发生的变化。王秀梅为解释祁门红茶品质形成的机制,用代谢组学对每一步加工环节的样品进行全面检测,清楚了解了挥发性成分、糖类物质、氨基酸和多酚类物质的变化规律^[43]。赵峰等通过试验证实近红外光谱分析方法在武夷岩茶生产过程中实际在线检测应用的可行性^[44]。解东超等运用 LC-MS 进行紫娟烘青绿茶加工过程中花青素变化规律研究,为紫娟绿茶加工工艺的优化奠定了理论基础^[45]。米雨荷用同种原料不同加工工艺的茶叶中生物胺含量来进行加工工艺优化^[31]。伍岗等运用 SPME-GC-MS 测定 4 种云南茶的香气成分,并对加工工艺进行评价^[46]。邸太妹等同样运用 HS-SPME/GC-MS 探索了茶鲜叶、杀青叶、烘干叶中香气成分的变化规律^[47]。秦俊哲等利用 HPLC 研究人工接种条件下茯砖茶中咖啡碱和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的检测条件及含量,以此来进行加工工艺评价^[48]。代谢组学技术在加工环节中对内含物质变化的快速检测与对不同工艺制作茶样的内含物质进行全面准确检测,这都为茶叶加工过程中的工艺优化、改良茶叶品质奠定了坚实的理论依据。

3.4 代谢组学在茶叶品质控制中的应用

茶叶品质由茶叶内含物质所决定,准确、全面地测定茶叶内含物质的变化及含量,探索茶叶品质形成的原因,是优化茶叶品质的关键。夏文娟研究了毛细管电泳分析茶黄素类和茶多酚的方法与应用,为茶叶品质检测和深加工研究奠定了理论基础^[49]。谭和平等探索分析了在茶叶生化成分研究中,核磁共振技术所具有的优势与局限性^[50]。裴亭用 HPLC 测定了茶叶中的烟酸含量,为茶叶的营养价值评定提供了依据^[51]。谭超等运用魔角旋转交叉极化固体核磁共振仪(CP-MAS NMR)来进行普洱茶茶褐素类主要组分特征及光谱学性质研究,为普洱茶功能性研究奠定了理论基础^[52]。马晓年等运用毛细管电泳法测定茶叶中儿茶素、表儿茶素、原儿茶酸、原儿茶醛、杨梅素和槲皮素等化合物含量^[53-54]。刘晓莎等利用核磁共振波谱技术检测茶汤的水浸出物,发现水浸出物与冲泡次数之间的变化规律;与多变量统计方法相结合,研究不同香型铁观音茶叶的水浸出物在内含物组成上的差异,可精准了解酚类物质与糖类物质的变化规律^[55]。胡燕等应用高效液相色谱法研究四川黑茶的指纹图谱,通过试验进一步建立四川黑茶的 HPLC 指纹图谱,可更精准地鉴定和评价除方包茶之外的四川黑茶^[56]。郑起帆通过对不同茶山普洱茶的代谢物差异研究发现,运用¹H-NMR 结合偏最小二乘法-判别分析(sPLS-DA)的方法具有良好的效果,为普洱

茶品质评价找到新方向^[57]。在测定内含物质时,HPLC、NMR等方法都能进行快速准确且具有深度的测定,而在对茶叶香气进行评价时,GC-MS对于挥发性物质的检测更为精准。刘盼盼等总结发现,GC-MS是目前对茶叶香气检测最为准确、全面的方法^[58]。刘洪林等在测定茶叶内含物质时均采用HPLC或LC-MS技术^[59-61]。汤莎莎等运用HS-SPME/GC-MS技术测定了乌牛早茶的挥发性风味物质^[62]。

3.5 代谢组学在茶叶产地、年份鉴别中的应用

代谢组学在帮助人们准确全面了解茶叶的同时,为茶叶产地与年份的鉴别提供了技术支撑。周黎等通过运用GC-MS分析普洱茶挥发性物质来区别不同贮藏年份的普洱茶,为普洱茶年份的鉴定奠定了理论基础^[63]。宁井铭等分别采用傅里叶变换红外光谱技术对普洱茶、六堡茶、信阳毛尖及恩施玉露茶进行年份鉴别,表明此种技术的可行性^[64-68]。刘顺航等运用HPLC对不同年份的茶珍进行了鉴别^[69]。

4 展望

生活水平的不断提高,为茶产业的发展带来了积极影响,伴随着科技研究技术的进步,人们对于茶这种多元化产品的认知手段也越来越多,代谢组学作为一门同样覆盖多方面领域的学科,对茶叶从栽培到加工再到最后的品饮及多元化深加工环节中都可以进行相对较全面、准确、快速测定,使人们了解每一环节中茶叶所发现的内含物质变化规律,从最基础的物质代谢层面去认识茶叶。在将代谢组学技术运用到茶科学领域时,除了探索代谢组学技术更多范围的运用外,还可加强与其他组学技术(基因组学、蛋白组学)的联合运用,从基因、RNA、代谢物变化等多方面掌握茶叶的变化规律,结合更多的研究技术分析手段为茶产业的深入快速发展找到新的方向。

参考文献:

- [1] Sánchez B, Ruiz L, Gueimonde M, et al. Omics for the study of probiotic microorganisms[J]. Food Research International, 2013, 54(1):1061-1071.
- [2] Lloyd W, Pedro M, Richard A. Plant metabolomics: large-scale phytochemistry in the functional genomics era[J]. Phytochemistry, 2003, 62(6):32-36.
- [3] 周琼琼,孙威江. 代谢组学技术及其在茶叶研究中的应用[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(10):1821-1826.
- [4] 许国旺. 代谢组学:方法与应用[M]. 北京:科学出版社, 2008:1-137.
- [5] Van G J, Leegwater D C. Urine profile analysis by field desorption mass spectrometry, a technique for detecting metabolites of xenobiotics. Application to 3,5-dinitro-2-hydroxytoluene[J]. Biological Mass Spectrometry, 2010, 10(1):1-4.
- [6] Lindon J C, Nicholson J K, Holmes E, et al. Summary recommendations for standardization and reporting of metabolomic analyses[J]. Nature Biotechnol, 2005, 23(7):833-838.
- [7] Oliver S G. From gene to screen with yeast[J]. Curr Opin Genet Dev, 1997, 7(3):405-409.
- [8] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E, et al. Metabonomics: understanding the metabolic responses of living systems to

- pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data[J]. Xenobiotica, 1999, 29(11):1181-1189.
- [9] Fiehn O, Kopka J, Dörmann P, et al. Metabolite profiling for plant functional genomics[J]. Nature Biotechnology, 2000, 18(11):1157-1161.
- [10] Brindle J T, Antti H, Holmes E, et al. Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-¹NMR-based metabolomics[J]. Nature Medicine, 2002, 8(12):1439-1444.
- [11] 漆小泉,王玉兰,陈晓亚. 植物代谢组学-方法与应用[M]. 1版. 北京:化学工业出版社, 2011:27-28.
- [12] 王俊德,商振华,郁蕴璐. 高效液相色谱法[M]. 北京:中国石化出版社, 1992:11.
- [13] Gates S C, Sweeley C C. Quantitative metabolic profiling based on gas chromatography[J]. Clinical Chemistry, 1978, 24(10):1663-1673.
- [14] Dunn W B, Ellis D I. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies[J]. Trac Trends Anal Chem, 2005, 24(4):285-294.
- [15] Hollywood K, Brison D R, Goodacre R. Metabolomics: current technologies and future trends[J]. Proteomics, 2006, 6(17):4716-4723.
- [16] Dunn W B, Bailey N J C, Johnson H E. Measuring the metabolome: current analytical technologies[J]. The Analyst, 2005, 130(5):606-625.
- [17] 董登峰. 代谢组学方法及其在植物学研究中的应用[J]. 广西植物, 2007, 27(5):765-769.
- [18] 郝亚利. 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[D]. 安徽:安徽农业大学, 2010:17-39.
- [19] 田艳玲,王浩. 液质联用技术测定茶叶中多菌灵残留[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(5):111-114.
- [20] 王凯. 基于稳定性同位素¹⁵N示踪和代谢谱分析技术的茶叶氮代谢研究[D]. 合肥:安徽农业大学, 2012.
- [21] 王敏. 固相萃取技术和高效液相色谱串联质谱联用在茶叶中农药残留检测中的应用[D]. 合肥:安徽大学, 2013:5-8.
- [22] 王敏,韩芳,张蕾,等. 高效液相色谱-串联质谱同位素内标法测定茶叶中25种有机磷农药残留[J]. 分析实验室, 2013, 32(4):76-81.
- [23] 贾玮,黄峻榕,凌云,等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定茶叶中290种农药残留组分[J]. 分析测试学报, 2013, 32(1):9-22.
- [24] 王丽霞,汤举红,肖斌,等. 氟对茶树生长叶片营养成分含量、儿茶素类物质和香气成分的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(2):429-436.
- [25] 韩璐,陈达炜,吕冰,等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速筛查茶叶中的多种农药残留[J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(4):386-393.
- [26] 李春芳. 茶树类黄酮等次生代谢产物的合成及基因的表达分析[D]. 北京:中国农业科学院, 2016:2-8.
- [27] 罗学平,李丽霞,马超龙,等. 四川主栽茶树品种红茶香气成分的SPME-GC-MS分析[J]. 食品科学, 2016, 37(16):173-178.
- [28] 吴颖瑞,龙启发,蒋小华,等. SPME-GC/MS联用分析六堡茶茶花香气成分[J]. 广西植物, 2016, 36(11):1389-1395.

- [29] 冯德建, 邹 燕, 史谢飞, 等. 茶叶中高氯酸盐的液相色谱-串联质谱测定方法研究[J]. 中国测试, 2016, 42(4): 1-4.
- [30] 何正和, 魏 斌, 魏云计, 等. 气相色谱-串联质谱法快速测定茶叶中的蒽醌[J]. 化学分析计量, 2017, 26(3): 18-21.
- [31] 米雨荷. 茶叶中生物胺 UPLC 检测方法的建立及加工工艺对其含量的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2016: 11-24.
- [32] 赖国银, 王俐娟, 卢 鹤, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱定性研究茶叶籽中的酚类化合物[J]. 色谱, 2017, 35(5): 502-508.
- [33] 龚 雪, 刘忠英, 李 燕, 等. HS-SPME/GC-MS 法分析黔茶新品种绿茶挥发性成分[J]. 湖南农业科学, 2017(11): 69-72, 75.
- [34] 王丽鸳, 成 浩, 周 健, 等. 绿茶数字化多元化学指纹图谱建立初探[J]. 茶叶科学, 2007, 27(4): 335-342.
- [35] 成 浩, 王丽鸳, 周 健, 等. 基于化学指纹图谱的绿茶原料品种判别分析[J]. 中国农业科学, 2008, 41(8): 2413-2418.
- [36] 成 浩, 王丽鸳, 周 健, 等. 基于化学指纹图谱的扁形茶产地判别分析研究[J]. 茶叶科学, 2008, 28(2): 83-88.
- [37] 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[J]. 茶叶科学, 2010, 30(2): 83-88.
- [38] 周 健, 成 浩, 叶 阳, 等. 基于近红外的 Fisher 分类法识别茶叶原料品种的研究[J]. 光学学报, 2009, 29(4): 1117-1121.
- [39] 李万春. 气质联用在不同茶叶品质鉴定中的应用[D]. 南京: 南京理工大学, 2012: 18.
- [40] 吕海鹏, 林 智, 张 悦, 等. 不同等级普洱茶的化学成分及抗氧化活性比较[J]. 茶叶科学, 2013, 33(4): 386-395.
- [41] 徐欢欢, 尹 丹, 刘提提, 等. 不同红茶中主要氨基酸含量及其对小鼠自主活动的影响研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(17): 300-304.
- [42] 贺 群, 黄旦益, 卢 翠, 等. 适制绿茶与红绿茶兼宜品种挥发性香气组分及其相对含量差异研究[J]. 西北农业学报, 2017, 26(9): 1363-1378.
- [43] 王秀梅. 祁门红茶加工过程中代谢谱分析及其品质形成机理研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2012: 20-22.
- [44] 赵 峰, 林河通, 杨江帆, 等. 基于近红外光谱的武夷岩茶品质成分在线检测[J]. 农业工程学报, 2014, 30(2): 269-277.
- [45] 解东超, 戴伟东, 李朋亮, 等. 基于 LC-MS 的紫娟烘青绿茶加工过程中花青素变化规律研究[J]. 茶叶科学, 2016, 36(6): 603-612.
- [46] 伍 岗, 夏 锐, 张艳梅, 等. SPME-GC-MS 测定 4 种云南茶的香气成分[J]. 西南农业学报, 2016, 29(8): 1993-1997.
- [47] 邸太妹, 傅财贤, 赵 磊, 等. 基于 HS-SPME/GC-MS 方法研究绿茶香气特征及形成[J]. 食品工业科技, 2017, 38(18): 269-274, 284.
- [48] 秦俊哲, 刘凯利, 黄亚亚, 等. 茯砖茶中咖啡碱与 EGCG 的 HPLC 检测分析[J]. 陕西科技大学学报(自然科学版), 2017, 35(2): 110-113, 120.
- [49] 夏文娟. 毛细管电泳分析茶黄素类和茶多酚的方法与应用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006: 8-10.
- [50] 谭和平, 谭福元, 邹 燕, 等. 核磁共振技术在茶叶生化成分鉴定中的应用[J]. 中国测试, 2009, 35(6): 70-73.
- [51] 裴 亭. 高效液相色谱法测定茶叶中烟酸的含量[J]. 茶叶科学, 2011, 31(2): 124-128.
- [52] 谭 超, 彭春秀, 高 斌, 等. 普洱茶茶褐素类主要组分特征及光谱学性质研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(4): 1051-1056.
- [53] 马晓年. 毛细管区带电泳法同时测定茶叶中 5 种活性成分的含量[J]. 理化检验(化学分册), 2013, 49(9): 1053-1057.
- [54] 马晓年, 邵娅婷, 李 菲, 等. 毛细管电泳分离检测茶叶中 5 种多酚类化合物[J]. 食品科学, 2014, 35(8): 129-132.
- [55] 刘晓莎, 董继扬, 孟维君, 等. 铁观音茶水浸出物组成模式及溶出规律的核磁共振波谱分析[J]. 茶叶学报, 2015, 56(4): 198-205.
- [56] 胡 燕, 齐桂年. 四川黑茶的高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2015, 43(1): 134-140.
- [57] 郑起帆. 基于¹H-NMR 的四个茶山普洱生茶代谢组学研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2016: 3-5.
- [58] 刘盼盼, 龚自明, 高士伟, 等. 茶叶香气质量评价方法研究进展[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(16): 4085-4089, 4092.
- [59] 刘洪林, 童华荣. 高效液相色谱法同时测定工夫红茶中 10 种内含物成分[J]. 食品科学, 2016, 37(8): 97-101.
- [60] 孟怡璠, 杜欢欢, 江 海, 等. UPLC-MS-MS 测定红茶中的茶黄素含量[J]. 农业技术与装备, 2017(7): 9-12.
- [61] 陈秋虹, 黄 艳, 周洁洁, 等. 长柱金花茶叶的化学成分研究(II)[J]. 中草药, 2017, 48(23): 4845-4850.
- [62] 汤莎莎, 芦晨阳, 周 君, 等. 基于电子鼻和 HS-SPME-GC-MS 技术解析乌牛早茶的挥发性风味物质[J]. 食品工业科技, 2018(3): 1-15.
- [63] 周 黎, 赵振军, 刘勤晋, 等. 不同贮藏年份普洱茶非挥发物质的 GC-MS 分析[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2009, 31(11): 140-144.
- [64] 宁井铭, 张正竹, 王胜鹏, 等. 不同储存年份普洱茶傅里叶变换红外光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(9): 2390-2393.
- [65] 唐 林, 张艳诚, 李家华, 等. 基于近红外光谱的普洱茶年份检测研究[J]. 广东农业科学, 2014, 41(17): 93-96.
- [66] 罗 艳, 阮俊翔, 苏志恒, 等. FTIR 结合主成分分析鉴别不同年份六堡茶[J]. 食品工业科技, 2014, 35(12): 55-57, 65.
- [67] 马 健. 基于近红外光谱和聚类法的信阳毛尖的年份鉴别[J]. 信阳农林学院学报, 2015(3): 108-111.
- [68] 王胜鹏, 龚自明, 高士伟, 等. 基于近红外光谱技术的恩施玉露茶保存年份的快速无损鉴别[J]. 华中农业大学学报, 2015, 34(5): 111-114.
- [69] 刘顺航, 徐咏全, 李长文, 等. 不同年份生产帝泊洱茶珍 HPLC 指纹图谱研究[J]. 茶叶通讯, 2016, 43(2): 24-29.