

ICS 67.140.10

CCS

T/HSKX

湖北省食品科学技术学会团体标准

T/HSKX XXXX-2026

茶鲜叶海拔判别 超高效液相色谱-
串联质谱法

Discrimination of Altitude for Fresh Tea Leaves — Ultra-high Performance
Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry Method

(征求意见稿)

2026-XX-XX 发布

2026-XX-XX 实施

湖北省食品科学技术学会

发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由华中农业大学提出。

本文件由湖北省食品科学技术学会归口。

本文件起草单位：华中农业大学、安徽农业大学、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所。

本文件主要起草人：侯焘、李凯凯、娄瑞鑫、吴良基、李露青、王珊珊、任婧楠。

茶鲜叶海拔判别 超高效液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件界定了应用超高效液相色谱-串联质谱法（Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS）进行茶鲜叶海拔判别的术语和定义，描述了超高效液相色谱-串联质谱进行茶鲜叶海拔判别的方法，包括原理、仪器设备、分析模型的建立与验证、海拔判别、模型的更新维护、判别的准确性。

本文件适用于茶鲜叶的海拔判别，其适用条件为：原料来源单一产地、品种统一、采摘标准一致；样品采摘后 2 小时内液氮速冻，-80℃保存，判别时间距采摘时间不超过 3 个月；或样品经冷冻干燥后常温保存，判别时间距采摘时间不超过 6 个月。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 31748 茶鲜叶处理要求

GB/T 8302 茶 取样

GB/T 8303 茶 磨碎试样的制备及其干物质含量测定

GB/T 27417 合格评定 化学分析方法确认和验证指南

GB/T 45884 白茶产地判别 近红外光谱法

JJF 1317 液相色谱-质谱联用仪校准规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 茶鲜叶海拔判别模型 discrimination model of tea fresh leaves based on altitude

采集一定数量不同海拔梯度具有代表性的茶鲜叶样品，经前处理获得提取液，利用超高效液相色谱-串联质谱测定其化学成分指纹图谱，通过化学计量学方法建立的用于判别未知样品海拔归属的模型。

3.2 茶鲜叶指纹图谱数据库 fingerprint database for fresh tea leaves

对已知海拔的茶鲜叶样品进行 UPLC-MS/MS 分析，获得由色谱峰保留时间、质谱响应强度等数据构成的化学指纹图谱集合。

3.3 训练集 training set

用于建立判别模型的已知海拔茶鲜叶样品的指纹图谱数据集合。

3.4 验证集 validation set

用于评价判别模型准确性、重复性和稳定性的已知海拔茶鲜叶样品的指纹图谱数据集合。

4 原理

不同海拔条件下，茶鲜叶中次生代谢产物（如儿茶素类、氨基酸类、黄酮类等）含量存在显著差异。通过超高效液相色谱-串联质谱法对茶鲜叶提取物进行分离检测，结合多元统计分析，建立海拔判别模型，实现未知样品海拔来源的判别。

5 仪器设备

5.1 超高效液相色谱-串联质谱仪

配备电喷雾离子源（ESI），具有正负离子切换功能；质量分析器可为三重四极杆或高分辨质谱；色谱系统应具备二元高压梯度泵、自动进样器、柱温箱；质谱仪灵敏度应符合 JJF 1317 的要求。

5.2 分析天平

感量 0.1 mg 和 0.01 g。

5.3 粉碎机

能将茶鲜叶冷冻干燥后粉碎并过筛，筛孔孔径 0.18 mm。

5.4 冷冻干燥机

冷阱温度 $\leq -50^{\circ}\text{C}$ ，真空度 $\leq 10\text{ Pa}$ 。

5.5 离心机

转速 $\geq 12\ 000$ r/min，配有 1.5 mL 或 2.0 mL 离心管转子。

5.6 超声波清洗器

功率 ≥ 100 W，频率 40 kHz。

5.7 其他

涡旋混合器、移液器、微孔滤膜（0.22 μm ）等。

6 分析模型的建立与验证

6.1 样品要求

6.1.1 样品应采自明确的海拔梯度（如低海拔 < 500 m、中海拔 500 - 799m、高海拔 > 800 m，具体范围可根据实际产区划分），且茶树品种、栽培管理方式一致。

6.1.2 单一产地、同一品种、相同采摘标准（如一芽二叶）的代表性鲜叶样品总数应不少于 30 份，单一海拔梯度的样品不少于 10 份，每份样品质量不少于 5 g。

6.1.3 样品采摘后按 1 的要求处理保存。

6.2 样品前处理

称取 50 mg 样本，加入 1000 μL 含有内标的提取液（甲醇乙腈水体积比 = 2:2:1，内标浓度（L-2-氯苯丙氨酸）20 mg/L），涡旋混匀 30 s；加入钢珠，45 Hz 研磨仪处理 10 min，超声 10 min（冰水浴）；零下 20 $^{\circ}\text{C}$ 静置 1 h；将样本 4 $^{\circ}\text{C}$ ，12000 rpm 离心 15 min；小心地取出 500 μL 上清于 EP 管中；在真空浓缩器中干燥提取物；向干燥后的固体加入 160 μL 提取液（乙腈水体积比为 1:1）复溶；涡旋 30 s，冰水浴超声 10 min；将样本 4 $^{\circ}\text{C}$ ，12000 rpm 离心 15 min；小心地取出 120 μL 上清于 2 mL 进样瓶，待测。

6.3 UPLC-MS/MS 测定条件

6.3.1 色谱条件（参考条件）

色谱柱：Acquity UPLC HSS T3 色谱柱（2.1 mm \times 100 mm，1.8 μm ）或等效柱；

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ ；

流动相 A：0.1% 甲酸水溶液；

流动相 B: 0.1% 甲酸乙腈溶液;

流速: 0.4 mL/min;

进样量: 2 μ L。

梯度洗脱程序见表 1。

表 1 液相色谱流动相条件

时间(min)	流速(μ L/min)	A%	B%
0.0	400	95	5
0.5	400	95	5
5.5	400	50	50
9.0	400	5	95
10.5	400	5	95
12.0	400	95	5

6.3.2 质谱条件 (参考条件)

离子源: ESI, 正负离子模式分别采集;

毛细管电压: 2500 V (正离子模式) 或 -2000 V (负离子模式);

锥孔电压: 30 V;

离子源温度: 100°C;

脱溶剂气温度: 500°C;

反吹气流速: 50 L/h;

脱溶剂气流速: 800 L/h;

质核比 (m/z) 采集范围 50-1200;

碰撞气体: 氦气;

数据采集模式: 多反应监测 (MRM) 或全扫描 (取决于质谱类型)。

6.4 指纹图谱采集

每份样品按 6.2 和 6.3 连续测定 3 次，取平均色谱图作为该样品的原始指纹图谱。记录各特征峰的保留时间和峰面积，构建数据矩阵。

6.5 定性分析

原始数据通过质谱数据采集软件获取，采用专业数据处理软件（如 Progenesis QI、Compound Discoverer、XCMS 等）进行峰提取、峰对齐等预处理。基于在线数据库（如 METLIN、mzCloud、MassBank 等）、公共数据库及自建数据库进行化合物鉴定，同时结合理论碎片离子匹配，确认目标化合物。

6.6 训练集和验证集划分

运用随机抽样法，将样品集按约 7:3 的比例划分为训练集和验证集，分别用于模型建立和验证。

6.7 模型建立

对训练集指纹图谱数据进行预处理（如基线校正、峰对齐、归一化、中心化等），采用主成分分析（principal component analysis, PCA）降维，再应用偏最小二乘判别分析（partial least squares discriminant analysis, PLS-DA）、正交偏最小二乘判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA）、支持向量机（support vector machine, SVM）或随机森林（random forest, RF）等方法建立海拔判别模型。模型应以海拔类别（如低、中、高）作为输出变量。

6.8 模型验证

用验证集样品对模型进行验证，计算判别正确率（recognition accuracy, RA）。判别正确率按式（1）计算：

$$RA = \frac{N_{correct}}{N_{total}} \times 100\% \quad (1)$$

式中：

$N_{correct}$ ——判别正确的样品数；

N_{total} ——验证集样品总数。

模型判别正确率应满足以下要求：

- a) 对于二分类判别（如低海拔/高海拔）， $RA \geq 85\%$ ；

b) 对于三分类及以上判别（如低/中/高海拔）， $RA \geq 80\%$ 。

7 海拔判别

7.1 待测茶鲜叶样品按第 6.2、6.3 相同方法进行前处理和 UPLC-MS/MS 分析，获得指纹图谱数据。

7.2 将待测样品的指纹图谱数据导入已建立并验证合格的海拔判别模型中，模型输出判别结果（所属海拔类别）。

7.3 每个样品应独立测定 3 次，至少 2 次判别结果一致方可报告；若 3 次结果均不一致，应重新制备样品并测定。

8 模型的更新维护

8.1 每年至少对模型维护更新一次。出现下列情况之一时，应及时更新：

- a) 更换色谱柱、质谱离子源等关键部件；
- b) 仪器进行重大维修或搬迁后；
- c) 新增海拔产区或茶树品种；
- d) 其他可能影响模型性能的情况。

8.2 模型维护时，应收集新采集的具有代表性的茶鲜叶样品（不少于 30 份），按相同方法测定后加入原数据库中，重新优化模型参数。

9 判别的准确性

9.1 重复性

在同一实验室，同一操作人员使用相同仪器，对同一样品独立制备并测定 3 次，至少 2 次判别结果应一致。

9.2 再现性

在不同实验室，由不同操作人员使用不同型号的 UPLC-MS/MS 仪器，对相同来源的样品进行测定，独立判别结果应一致。

10 判别示例

见附录 A

附录 A

(资料性)

龙井 43 茶鲜叶海拔判别模型示例

A.1 示例背景

以某茶区海拔梯度为例，采集海拔 <500 m（低海拔）、500~799 m（中海拔）、>800 m（高海拔）三个等级的茶鲜叶样品各 20 份，品种为龙井 43，一芽二叶标准。

A.2 模型建立

按第 6.2 和 6.3 方法进行样品前处理、UPLC-MS/MS 测定，获得指纹图谱。将 60 份样品随机划分为训练集 42 份、验证集 18 份。采用 RF 建立判别模型，模型交叉验证正确率 91.5%，满足三分类 $\geq 80\%$ 的要求。

A.3 待测样品判别

取未知海拔茶鲜叶样品 3 份，按相同方法测定，将数据导入模型，判别结果分别为：样品 1（低海拔）、样品 2（中海拔）、样品 3（高海拔），与实际海拔记录一致。

A.4 判别报告

样品测试报告格式见表 A.1。

表 A.1 样品测试报告

项目	内容
样品名称	茶鲜叶
送样单位	xxx
测试单位	xxx
仪器信息	UPLC-MS/MS（型号、编号）
测试结果	海拔类别： <input type="checkbox"/> 低海拔 <input type="checkbox"/> 中海拔 <input type="checkbox"/> 高海拔
判别正确率	模型验证正确率：91.5%

测试者：

审核者：

测试日期：