

基于电子舌和非靶向代谢组学比较 不同冲饮方式下参灵茶滋味差异

魏飞^{1,2}, 罗舒², 宋怡², 李芳², 杨园^{1,2}, 罗霞^{1,2*}

(1. 成都大学食品与生物工程学院, 四川成都 610041) (2. 四川省中医药科学院菌类药材研究所、菌类药材系统研究与开发实验室、中药材品质及创新中药研究四川省重点实验室, 四川成都 610041)

摘要: 采用感官评价、电子舌与非靶向代谢组学技术研究不同冲饮方式(煮沸、焖煮、冷泡)对参灵茶滋味和成分的影响。感官评价结果表明,不同冲饮方式的参灵茶得分接近,需运用电子感官技术进一步区分。电子舌7个味觉传感器响应值均有差异,酸味上差异显著,表明不同冲饮方式制备的参灵茶滋味差异较大,具有不同的味觉信息。LC-MS在两种模式下共检测出9000多种代谢产物,其中正离子模式3组共有的显著差异代谢物58种,负离子模式3组共有的显著差异代谢物42种,对这些代谢物进行分类统计发现,正离子模式脂类及类脂类占比最高(32.76%),其次是杂环类(15.52%),负离子模式苯丙素和聚酮类占比最高(23.81%),其次是脂类及类脂类(16.67%),两种模式共得到12条代谢通路。不同冲饮方式下参灵茶电子舌及LC-MS鉴定结果均存在差异,综合分析表明温度可能是引起电子舌酸味差异和有机酸类化合物表达差异的重要因素。该研究可为药食同源中药复方代用茶——参灵茶的风味特征辨别及灵芝等药材的进一步开发利用提供一定参考。

关键词: 参灵茶; 感官评价; 电子舌; 非靶向代谢组学

文章编号: 1673-9078(2024)12-339-350

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.12.1547

Comparison of Flavor Differences in Ginseng Tea Prepared with Different Brewing Methods Using Electronic Tongue and Non-targeted Metabolomics

WEI Fei^{1,2}, LUO Shu², SONG Yi², LI Fang², YANG Yuan^{1,2}, LUO Xia^{1,2*}

(1. School of Food and Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610041, China)

(2. Institute of Mushroom and Herb Research, Sichuan Academy of Traditional Chinese Medicine, Laboratory of Mushroom and Herb Systematic Research and Development, and Sichuan Key Laboratory of Quality of Chinese Mushroom and Innovative Traditional Chinese Medicine Research, Chengdu 610041, China)

Abstract: Sensory evaluation, electronic tongue, and non-targeted metabolomics techniques were used to investigate the effects of different brewing methods (boiling, simmering, and cold brewing) on the flavor and composition of ginseng

引文格式:

魏飞,罗舒,宋怡,等.基于电子舌和非靶向代谢组学比较不同冲饮方式下参灵茶滋味差异[J].现代食品科技,2024,40(12):339-350.

WEI Fei, LUO Shu, SONG Yi, et al. Comparison of flavor differences in ginseng tea prepared with different brewing methods using electronic tongue and non-targeted metabolomics [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(12): 339-350.

收稿日期: 2023-12-25

基金项目: 国家现代农业产业技术体系四川道地中药材创新团队项目(SCCXTD-2020-19); 四川省“天府万人计划”资助资金(创新领军)(2020WRCXLJ); 菌类药材系统研究与转化创新团队(2022C004)

作者简介: 魏飞(1997-),女,硕士研究生,研究方向:食品加工, E-mail: 1527360429@qq.com

通讯作者: 罗霞(1974-),女,博士,研究员,研究方向:菌类药材精深加工, E-mail: 287748567@qq.com

tea, a traditional Chinese medicine compound tea used as a food and medicine. The results of the sensory evaluation showed that the scores of ginseng tea brewed using different methods were similar; thus, further differentiation was performed using electronic sensory techniques. The response values of the seven taste sensors of the electronic tongue varied, with significant differences in sour taste, indicating that the flavor of ginseng tea prepared using different brewing modes varied widely and had distinct gustatory characteristics. More than 9 000 metabolites were detected using liquid chromatography–mass spectrometry in the two modes, of which 58 metabolites with significant differences were shared among the three groups in the positive ion mode, and 42 metabolites with significant differences were shared among the three groups in the negative ion mode. The classification statistics of the metabolites showed that lipids and lipid-like molecules accounted for the highest proportion in the positive ion mode (32.6%), followed by heterocycles (15.5%), whereas phenylpropanoids and polyketides accounted for the highest proportion in the negative ion mode (23.8%), followed by lipids and lipid-like molecules (16.7%). Twelve metabolic pathways were obtained in the two modes. Differences were observed in both electronic tongue and liquid chromatography–mass spectrometry identification results of ginseng tea under different brewing modes. Comprehensive analysis indicated that temperature is an important factor leading to differences in the acidic taste of the electronic tongue and expression of organic acid compounds. This study serves as a valuable resource for identifying the flavor characteristics of ginseng tea and for the further development and utilization of medicinal herbs such as *Ganoderma lucidum*.

Key words: ginseng tea; sensory evaluation; electronic tongue; non-targeted metabolomics

灵芝，为多孔菌科真菌赤芝（*Ganoderma lucidum* (Leyss.ex Fr.) Karst.）或紫芝（*Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang）的干燥子实体，是我国传统中药材，兼具药理活性和食用价值。灵芝具有抗肿瘤、抗衰、免疫调节、降血糖、血脂等多种作用^[1,2]，早有灵芝被用于泡酒、切片熬煮以及打粉冲泡饮用等的报导，近年来更是作为原料被用于开发醋饮料、复合饮料、酱油等食品^[3-5]。人参（*Panax ginseng* C. A. Mey.）、黄精（*Polygonatum sibiricum* Red.）、桑叶（*Morus alba* L.）也是常见的药食两用中药材，搭配使用具有益气养阴的功效^[6-9]。目前对黄精、桑叶的研究多集中在含量测定（如黄酮、多糖、多酚等）、活性测定（抗氧化活性）方面^[10-12]，而人参侧重于成分检测和鉴定，未见有将其组合成代用茶作为食品使用的相关研究。

电子舌（Electronic Tongue）作为一种智能味觉仿生系统，通过味觉传感器阵列模拟人类的味觉系统达到快速识别样本间差异的目的，是一类新型的分析检测仪器，电子舌技术在食品领域的研究主要集中在食品溯源、食品新鲜度、食品品质分级和食品生产过程中的质控等方面，与人工感官评价相比，具有简单方便、快速无损、客观、可重复性好等特点，因此，电子舌技术也被广泛应用于化妆品、环境监测、生物医学等领域^[13-16]。

代谢组学（Metabolomics）是在后基因组学时代兴起的一门跨领域学科，其主要目标是定量的研

究生命体对外界刺激、病理生理变化、以及本身基因突变而产生的其体内代谢物水平的多元动态反应^[17]。代谢组学诞生后便得到迅速发展并渗透到多项领域，比如疾病诊断、医药研制开发、营养食品科学、毒理学、环境学，植物学等与人类健康护理密切相关的领域。从分析技术的角度来看，非靶向代谢组学是尽可能多地定性和相对定量生物体系中的代谢物，最大程度反映总的代谢物信息。针对生物样本中小分子代谢物种类多、极性跨度大和浓度动态范围大的特点，色谱-质谱技术成为代谢组学研究最重要的工具。与其他色谱-质谱联用技术相比，液相色谱-串联质谱法（Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS），更适用于分析难挥发或热稳定性差的代谢物。近些年来，LC-MS在中药代谢组学中的应用主要有单味中药研究、中药复方配伍规律研究、生物标志物研究和中药复方作用机制研究等四个方面^[18]，此外，LC-MS也被用于食品行业，对食品或食品原料进行检测和鉴定^[19-21]。

参灵茶——以人参、黄精、桑叶、灵芝四味药食同源中药材组成，本研究采用感官评价法与电子舌对不同冲饮方式下参灵茶的滋味进行测定，同时结合非靶向代谢组学技术研究不同冲饮方式制备的参灵茶的代谢产物，比较不同冲饮方式制备的茶汤之间的差异，该研究可为人参等药材进一步开发利用提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

人参、黄精、桑叶，四川省中药饮片责任公司；灵芝，四川江油；玉米纤维茶包袋，杭州宏雅茶具有限公司；乙腈（Merck，1499230-935）；乙酸铵（Sigma，70221）；Astree 电子舌，法国 Alpha MOS 公司；Thermo QE HF-X 质谱仪；Ultimate 3000 超高效液相色谱系统，美国 Dionex 公司；5430R 低温高速离心机，德国 Eppendorf 公司），色谱柱：ACQUITY UPLC BEH Amide 1.7 μm ，2.1 mm \times 100 mm column，美国 Waters 公司；HH-S 电子恒温水浴锅，北京中兴伟业仪器有限公司；WFZ UV-2802SH 型紫外可见分光光度计，尤尼柯（上海）仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备

取人参 1 g（20 目）、黄精 2.5 g（2 cm \times 1 cm \times 1 cm）、桑叶 5 g（40 目）、灵芝 3 g（1 cm \times 1 cm \times 0.5 cm），玉米纤维茶包袋包装，分别采用煮沸、焖煮、冷泡三种方式制备样品。煮沸：400 mL 水，100 $^{\circ}\text{C}$ 下煮沸 1.5 h，过滤茶汤，定容至 400 mL 备用。焖煮：400 mL 水，沸腾后（100 $^{\circ}\text{C}$ ）关火浸泡 1.5 h 至室温，过滤茶汤，定容 400 mL 备用。冷泡：400 mL 水，4 $^{\circ}\text{C}$ 冷泡 1.5 h，过滤茶汤，定容 400 mL 备用。三种方式制备样品分别记为样品 A（煮沸）、样品 B（焖煮）、样品 C（冷泡）。

1.2.2 感官评价

表 1 感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation criteria

等级	汤色	滋味	香气
优	棕黄或棕红，均匀清澈	入口甜、回甘	草木香气浓
良	棕黄或棕红，较清澈	入口微甜、回味微涩	草木香气较浓
中	过浓或过淡、欠清澈	入口淡、无味	草木香气较淡
差	过浓、浑浊	入口微涩、回味微涩	草木香气淡

参考莫韩御等^[22]的方法，感官评价由 10 名训练有素的小组成员进行，对样品的汤色、香气、滋味进行评估（以 90~99 分为“优秀”，80~89 分“良好”，70~79 分“一般”，60~69 分为“较差”，感官评价标准见表 1），按照 critic 法对三个指标赋予权

重，分别为汤色 79.3%、滋味 15.4%、香气 5.3%。感官评价总分按 10 人总得分的平均值 \pm 标准差来表示。

1.2.3 电子舌检测

电子舌的检测采用法国产电子舌传感器，由 AHS-Sourcess（酸）、CTS-Saltiness（咸味）、NMS-umami（鲜味）、ANS（甜味）、SCS（苦味）、PKS、CPS 等 7 个传感器组成，选择 Ag/AgCl 作为参比电极^[23]。

检测方法：取滤液 80 mL，放入电子舌检测专用烧杯。将 1、2、3 号样品分别放入电子舌自动进样器的 2、4、6 位；1、3、5 位放装有 85 mL 的蒸馏水。在检测样品前，先清洗传感器 120 s，然后检测 120 s。每个样品检测 5 次，取后 3 次在 100~120 s 之间的稳定值作为检测结果，进行分析。

1.2.4 LC-MS检测

1.2.4.1 样本预处理

称取一定量的样品，加入 400 μL 预冷甲醇 / 乙腈 / 水溶液（4:4:2，V/V），涡旋混合，-20 $^{\circ}\text{C}$ 静置 60 min，14 000 g 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 20 min，取上清真空干燥，质谱分析时加入 100 μL 乙腈水溶液（乙腈：水=1:1，V/V）复溶，涡旋，14 000 g 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min，取 2 μL 上清液进样分析。

1.2.4.2 色谱条件

整个分析过程中样品置于 8 $^{\circ}\text{C}$ 自动进样器中，样品经超高效液相色谱系统，使用 HSS T3 色谱柱进行分离。其中进样量 2 μL ，柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ ，流量 0.3 mL/min；色谱流动相 A：0.1% 甲酸水，B：0.1% 甲酸甲醇，C：0.05% 乙酸水，D：0.05% 乙酸甲醇。样本队列中插入 QC 样品，用于监测和评价系统的稳定性及实验数据的可靠性。

1.2.4.3 Q-EXACTIVE 质谱条件

每例样品分别采用电喷雾电离（ESI）进行正离子和负离子模式检测。样品经 UHPLC 分离后用 Thermo QE HF-X 质谱仪进行质谱分析。质谱条件如下：鞘气流速：50；辅助气：13；喷雾电压：2.5 kV（+）/2.5 kV（-）；S-Lens RF：50；毛细管温度：325 $^{\circ}\text{C}$ ；辅助气温度：300 $^{\circ}\text{C}$ ；二级碰撞能量（NCE）：30；Top N=10。扫描范围：70~1 050 m/z，扫描方式：正、负离子分别扫描。分析软件：Xcalibur 4.1 版本。

1.3 数据处理

将质谱采集得到的原始数据经过 TidyMass 包

进行峰提取、峰对齐、峰校正、标准化等数据前处理。输出由样本名称、谱峰信息（包括保留时间和分子量）、及峰面积组成的三维数据矩阵。代谢物结构鉴定采用精确质量数匹配（ $<25\text{ mg/L}$ ）和二级谱图匹配的方式，检索实验室自建数据库以及 HMDB、Massbank、PubChem、Metabolomics Workbench 等数据库。应用软件 SIMCA-P 14.1 (Umetrics, Umea, Sweden) 进行模式识别，数据经 Excel 和 Pareto-scaling 预处理后，进行多维统计分析，包括无监督主成分分析 (PCA) 分析和正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA)。采用 Excel、SPSS 软件对数据进行处理，使用 Origin 2021 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同冲饮方式人工感官评价结果

通过对 3 种方式制备的茶汤样品感官审评 (表 2) 发现，煮沸 (样 A) 的茶汤总分最高，呈明亮的棕黄色，带有浓郁草木香气，味甘、微苦；焖煮 (样 B) 的茶汤色稍浅，甜味减少而苦味略有增加，香气不如煮沸的茶汤浓郁；而冷泡 (样 C) 的茶汤呈明黄色，没有明显的药材香，滋味也较寡淡。结果显示，与冷泡和焖煮方式相比，煮沸的样品具有更高的品质。但 B、C 两个样品单项指标得分和总得分都比较相近，人工感官评价结果存在个体差异，为了进一步区分不同茶汤在滋味上的差异，采用电子感官技术对不同冲饮方式制备的参灵茶进行测试。

表 2 感官评价结果

Table 2 Sensory evaluation results

样品	汤色	滋味	香气	总分
A (煮沸)	65.58 ± 10.59	11.97 ± 1.43	4.49 ± 0.34	83.13 ± 10.74
B (焖煮)	51.47 ± 4.36	9.86 ± 1.03	4.34 ± 0.32	74.39 ± 3.29
C (冷泡)	51.47 ± 7.16	10.5 ± 1.36	4.42 ± 0.2	74.85 ± 5.47

2.2 不同冲饮方式电子舌检测结果

电子舌对 3 种不同冲饮方式制备的参灵茶的滋味品质进行分析结果见图 1 和图 2。由图 1 可知，5 个滋味传感器对样品均有响应，酸味在 3 种不同方式制备的茶汤样本中较为突出，其响应值最高，而其他味觉的响应值没有太大差异。对 3 个样品 7 个传感器的响应值进行 PCA 分析，结果见图 2 所示。样 A、B、C 三个样本组间差异显著，没有明显的重叠区域，说明三个样本具有不同的味觉信息，组内差异较小，则表明生物学重复情况较好，主成分

1 (PCA1) 和 2 (PCA2) 的贡献率分别为 40.6% 和 59.2%，累计方差贡献率大于 80%，说明这两个主成分可以呈现样品的滋味特征信息，因此，电子舌分析能有效区分不同冲饮方式制备的参灵茶的滋味特征。

3 种不同方式制备的茶汤在酸味上有明显区别，可能与不同样本所含代谢物有关，因此，采用非靶向代谢组学的方法对样本进行鉴定和分析。

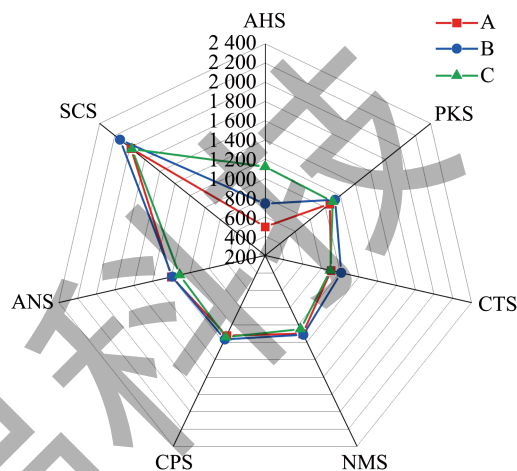


图 1 传感器响应值雷达图

Fig.1 Radar plot of sensor response values

注: A 为煮沸, B 为焖煮, C 为冷泡。下同。

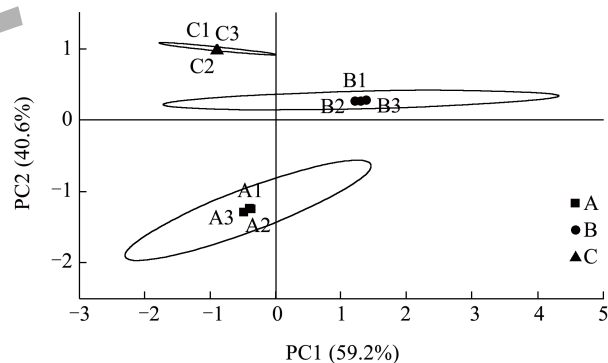


图 2 电子舌 PCA 得分图

Fig.2 Electronic tongue PCA score map

2.3 不同冲饮方式下茶汤的 LC-MS 检测结果

2.3.1 代谢物数量鉴定结果

将样品等量混合用于制备 QC 样本，QC 样本用于测定进样前仪器状态及平衡色谱-质谱系统，并用于评价整个实验过程中系统稳定性，三个样本的总离子流图 (Total Ion Chromatogram, TIC) 如图 3。将 QC 样本总离子流图，进行谱图重叠比较，结果表明各色谱峰的响应强度和保留时间基本重叠，说

明在整个实验过程中仪器误差引起的变异较小,得到的数据稳定可靠^[24,25]。正离子模式 B-A 组、B-C 组、C-A 组分别检测出 817、1 880 和 1 767 种代谢物,负离子模式 B-A 组、B-C 组、C-A 组分别检测出 873、1 967 和 1 848 种代谢物。

2.3.2 主成分分析 (PCA)

PCA 得分见图 4,正离子模式三个组累积方差贡献率分别为 69%、82.7%、85.8%,负离子模式为 85.7%、66.8%、85.5%,可以看出,所有组别的组间差异都较为明显,无重叠和交叉,组内差异也较小,表明三个样本生物学重复性较好,从整体上能反映三个样本之间的代谢差异,由此说

明该 PCA 分析模型可靠,不同冲饮方式下样本的代谢物存在差异。

2.3.3 正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 及置换验证

本实验正、负离子模式数据建立的 OPLS-DA 模型,模型稳定可靠,图 5 显示了基于正、负离子模式数据该组 OPLS-DA 模型的置换检验图,经 200 次置换检验验证可知, B-A 组、B-C 组、C-A 组在正负离子模式下的 R^2Y 均 >0.9 ^[26,27],表明本实验中正、负离子模式数据建立的 OPLS-DA 模型未发生过拟合,对各组别之间的差异具有较好的解释和预测,能够进行下一步差异代谢物的筛选。

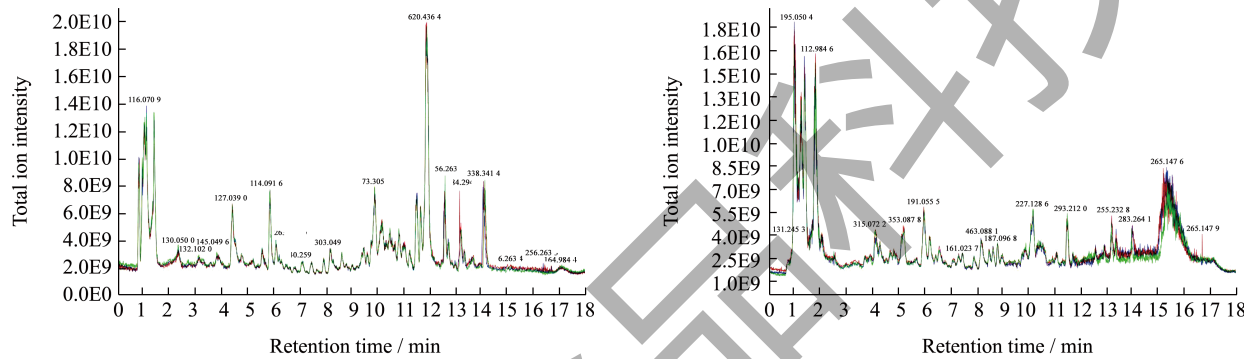


图 3 不同冲饮方式样品的总离子流图

Fig.3 Total ion flow diagrams of samples with different brewing methods

注:左为正离子模式;右为负离子模式。

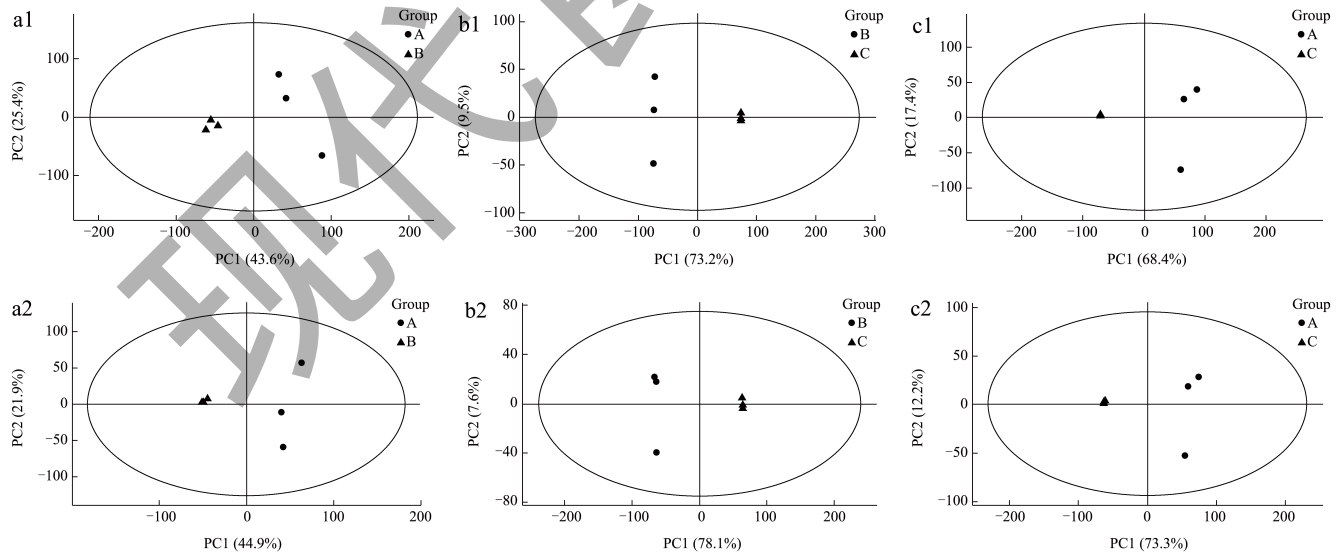


图 4 样 A、B、C 的 PCA 得分图

Fig.4 Plot of PCA scores for samples A, B and C

注:1 排为正离子模式得分图,2 排为负离子模式得分图。

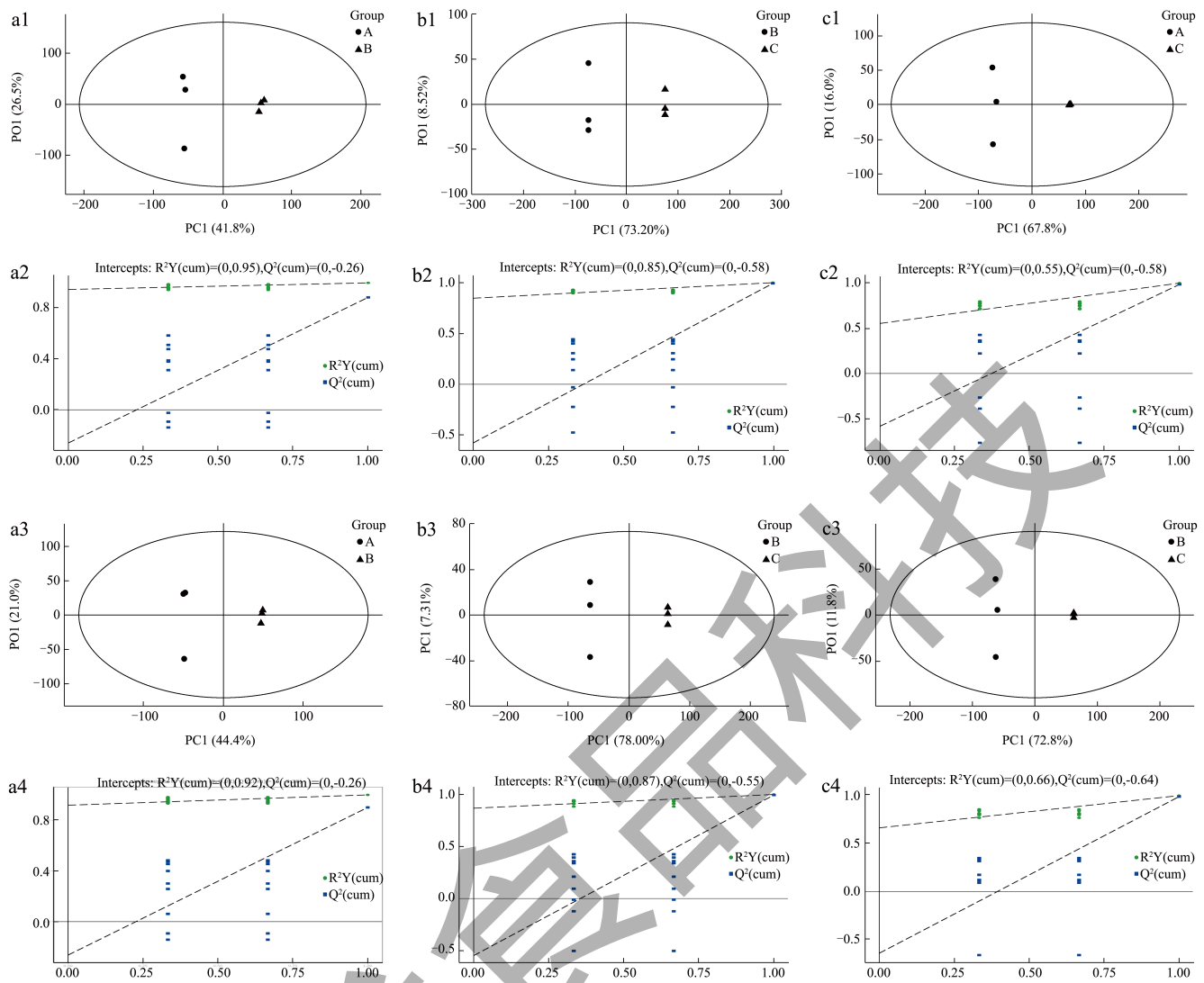


图5 样 A、B、C 的 OPLS-DA 得分及模型验证

Fig.5 OPLS-DA scores and model validation for samples A, B and C

注: 1 排为正离子模式下 OPLS-DA 得分图, 2 排为模型验证图, 3 排为负离子模式下 OPLS-DA 得分图, 4 排为模型验证图。

2.3.4 差异代谢物的筛选

根据一般的差异代谢物筛选标准: VIP 值 > 1, P 值 < 0.05 及 $FC \geq 2$ 和 ≤ 0.5 , 初步筛选出正负离子模式各组间的差异代谢物。其中, 正离子模式下 B-A 组 265 个、B-C 组 1 152 个、C-A 组 1 225 个, 负离子模式各组分别为 187、1 340 和 1 249 个, 由检测结果可知, 不同冲饮方式下参灵茶中显著差异代谢物的数量较多, 因此, 在此基础上进一步对各组别进行共有差异代谢物的筛选, 最终得到正离子模式下共有差异代谢物 58 个, 负离子模式下共有差异代谢物 42 个, 代谢物名称、分类信息及变化趋势见表 3 和表 4。

如表 3 和表 4 所示, 正离子模式检测到的共有差异代谢物以脂类和类脂类居多, 其次是杂环类、苯丙素和聚酮类、有机氧类、有机酸类和苯类, 黄酮类、生物碱类及甾醇类较少, 此外还检测出 1 个异戊二烯类化合物和 1 个有机氮化合物, 以及 4 种其他类化合物; 而负离子模式检测出的共有差异代谢物以苯丙素和聚酮类为主, 其次是有机酸类和苯类。本研究以 \log_2FC 值 ≥ 1 的代谢物作为上调代谢物, \log_2FC 值 ≤ -1 的代谢物作为下调代谢物^[28,29], 表中列出了两种模式下各组的代谢物信息, 正离子模式 B-A 组上调代谢物 16 个, 下调代谢物 42 个, B-C 组上调代谢物 58 个, 下调 0 个, C-A 组上调代谢物 5 个, 下调 53 个; 负离子模式 B-A 组上调代谢

物 15 个, 下调代谢物 27 个, B-C 组上调代谢物 40 个, 下调 2 个, C-A 组上调代谢物 3 个, 下调 39 个, 正离子模式中 B-A 组有 20 个代谢物峰面积及对应的 FC 值显著大于其他组, 类似的趋势在负离子模式也被观察到, 有 15 个代谢物的峰面积及对应的

FC 值也显著大于其他组, 综合来看, 组间差异代谢物在种类和表达情况上均存在差异, 三个样本中, 样本 B 检测到的化合物数量明显多于样本 A 和 C, 表明温度可能是影响代谢物的重要因素, 高温和低温都会影响茶汤中的代谢产物。

表 3 正离子模式下共有显著差异代谢物及变化趋势

Table 3 Shared significantly different metabolites and trends in positive ion patterns

类别	注释编号	名称	Rt/s	FC	Trend B-A	FC	Trend B-C	FC	TrendC-A
	M503T585	1-(2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-1,6-heptadien-3-one	584.79	5.15	↑	2.13	↑	2.41	↑
	M445T590	1,25-Dihydroxyvitamin D3-26,23-lactone	590.38	0.37	↓	2.71	↑	0.14	↓
	M439T593	Lucidenicacid L	592.67	0.45	↑	3.13	↑	0.14	↓
	M463T647	PA(8:0/8:0)	647.21	0.25	↓	2.19	↑	0.12	↓
	M768T674_2	PE-NMe2(18:4(6Z,9Z,12Z,15Z)/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z))	674.13	0.45	↓	2.90	↑	0.16	↓
	M501T585	Perulactone	584.79	5.20	↓	2.16	↑	2.41	↑
	M587T600	Physalin E acetate	599.66	3.79	↑	9.22	↑	0.41	↓
	M447T585	Pristimerin	584.67	6.59	↑	2.17	↑	3.03	↑
	M505T613	4'-Apo-beta,psi-caroten-4'-al	612.66	8.38	↑	2.89	↑	2.90	↑
	M459T573	7,11-Bisdeacetylvaltrate7-(3-methylpentanoate) 11-(3-hydroxy-3-methylbutanoate)	573.23	0.24	↓	5.56	↑	0.04	↓
脂类和类脂类	M443T340	Armillane	339.86	0.42	↓	5.98	↑	0.07	↓
	M613T645	Arnicolide A	645.37	2.72	↑	5.68	↑	0.48	↓
	M473T585	Lucidenic acid J	585.43	0.30	↓	2.35	↑	0.13	↓
	M502T585	LysoPC(P-16:0)	584.79	5.19	↑	2.16	↑	2.40	↑
	M592T575	LysoPE(0:0/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	574.82	2.70	↑	10.76	↑	0.25	↓
	M930T648	Notoginsenoside K	648.24	0.43	↓	2.21	↑	0.19	↓
	M441T615	Prednisolone tebutate	614.69	0.34	↓	2.02	↑	0.17	↓
	M285T649	Pregnanediol	648.6	0.48	↓	2.24	↑	0.21	↓
	M475T575	Diterpenoid EF-D	575.4	0.21	↓	2.26	↑	0.09	↓
	M443T617	2,3-Secoporrigenin	617.06	0.48	↓	2.32	↑	0.20	↓
	M331T655	Carteolol	654.66	0.41	↓	3.02	↑	0.13	↓
	M309T579	dehydronifedipine	578.76	0.43	↓	7.62	↑	0.06	↓
	M549T820	12-Ethyl-8-propyl-3-vinylbacteriochlorophyllide d	820.11	0.44	↓	2.43	↑	0.18	↓
有机杂环类	M196T301	1-Piperidine carboxylic acid	301.04	0.25	↓	5.18	↑	0.05	↓
	M272T384	5-Amino-2,3-dihydro-6-(3-hydroxy-4-methoxy-1-oxobutyl)-2,2-dimethyl-4H-1-benzopyran-4-one	383.74	0.45	↓	4.14	↑	0.11	↓
	M202T520	N-Deschlorobenzoyl indomethacin	520.19	0.46	↓	3.94	↑	0.12	↓
	M593T826	Pheophorbide a	826.42	0.33	↓	10.83	↑	0.03	↓
	M206T370	7,8-Dihydro-7,8-dihydroxykynurenate	369.55	2.90	↑	6.99	↑	0.41	↓

续表 3

类别	注释编号	名称	Rt/s	FC	Trend B-A	FC	Trend B-C	FC	TrendC-A
有机氧 化合物	M374T452	Chondroitin D-glucuronate	452.03	3.49	↑	10.31	↑	0.34	↓
	M426T593	5-Decanoyl-2-nonylpyridine	593.48	0.44	↓	2.49	↑	0.18	↓
	M341T679	Malabaricone C	679.35	0.38	↓	4.36	↑	0.09	↓
	M698T422	Neocarzinostatin chromophore	421.9	2.94	↑	7.39	↑	0.40	↓
有机 酸类	M302T90	N-Lauroylglycine	90.3	0.44	↓	4.91	↑	0.09	↓
	M805T602	Nostocyclopeptide A3	601.91	0.22	↓	3.02	↑	0.07	↓
	M245T321	Penicillenic acid	320.98	0.28	↓	3.73	↑	0.08	↓
	M270T302	Arginylisoleucine	302.1	0.32	↓	3.09	↑	0.09	↓
苯丙 素和 聚酮类	M714T393	Delphinidin3-O-(6''-O-malonyl)-beta-glucoside-3'-O-beta-glucoside	393.09	2.41	↑	5.53	↑	0.44	↓
	M395T611	6',7'-Dihydroxybergamottin	611.42	2.70	↑	7.15	↑	0.38	↓
	M537T502	Jaceidin 4'-glucuronide	502.17	0.43	↓	2.05	↑	0.21	↓
	M594T827	Pateamine	826.56	0.39	↓	6.47	↑	0.06	↓
	M507T513	Quercetin 3-O-(6''-acetyl-glucoside)	512.86	0.26	↓	6.50	↑	0.04	↓
	M395T660	Sinensetin	660.26	2.84	↑	8.28	↑	0.34	↓
苯类	M493T642	Oxatomide	641.78	0.20	↓	2.00	↑	0.10	↓
	M191T644	1,4-Bis-(1,1-dimethylethyl)-benzene	643.7	0.45	↓	2.25	↑	0.20	↓
	M342T230	Norflurazon	229.83	0.42	↓	5.82	↑	0.07	↓
	M583T584	Procaine hydrochloride	584.08	2.87	↑	6.97	↑	0.41	↓
黄酮类	M341T601	(S)-4',5,7-Trihydroxy-6-prenylflavanone	600.91	0.43	↓	20.70	↑	0.02	↓
	M381T327	Calophyllolide	327.03	2.29	↑	4.88	↑	0.47	↓
生物 碱类	M595T827	Codeinone	826.52	0.36	↓	2.45	↑	0.15	↓
	M619T658	Cryptodrine	657.86	0.24	↓	3.46	↑	0.07	↓
异戊二 烯类	M589T564	Anhydrorhodovibrin	563.58	0.44	↓	2.01	↑	0.22	↓
甾醇	M603T612	Lanceotoxin A	611.54	0.30	↓	2.66	↑	0.11	↓
	M481T594	Ajugalactone	593.90	0.49	↓	3.03	↑	0.16	↓
有机氮 化合物	M221T303	Echothiophate	303.11	0.46	↓	3.23	↑	0.14	↓
	M205T679	5-(4-methoxyphenyl)-2-methylpent-1-en-3-one	679.39	0.37	↓	6.94	↑	0.05	↓
其他类	M261T648	5-formyl-6-hydroxy-1,1,4a,6-tetramethyl-decahydronaphthalen-2-yl acetate	648.41	0.28	↓	3.11	↑	0.09	↓
	M535T895	Canthiumine	895.15	0.32	↓	13.02	↑	0.02	↓
	M375T502	3,4,5-trihydroxy-6-{{3-(4-methoxy-1-benzofuran-5-yl)-3-oxopropanoyl}oxy}oxane-2-carboxylic acid	502.17	0.44	↓	2.07	↑	0.22	↓

注: 表中↑为上调, ↓为下调。下表同。

表 4 负离子模式下共有显著差异代谢物及变化趋势

Table 4 Shared significantly different metabolites and trends in negative ion patterns

类别	注释编号	名称	rt/s	FC	Trend B-A	FC	Trend B-C	FC	Trend C-A
	M724T358	Cyanidin 3-sambubioside 5-glucoside	357.92	2.05	↑	5.69	↑	0.36	↓
	M711T401	Quercetin 3-O-(6''-malonyl-glucoside) 7-O-glucoside	400.9	2.38	↑	7.87	↑	0.34	↓
	M712T401	Delphinidin 3-O-(6''-O-malonyl)-beta-glucoside-3'-O-beta-glucoside	400.98	2.46	↑	7.52	↑	0.33	↓
苯丙素和聚酮类	M311T484	3,7-Di-O-methylquercetin	483.59	2.40	↑	33.8	↑	0.07	↓
	M284T539	Delphinidin	538.71	2.16	↑	6.36	↑	0.34	↓
	M533T539	Luteolin 7-O-(6''-malonylglucoside)	538.72	2.50	↑	5.19	↑	0.48	↓
	M534T539	Cyanidin 3-(6''-malonylglucoside)	538.93	2.53	↑	5.06	↑	0.50	↓
	M597T560	6''-O-Galloylquercimeritrin	559.76	0.44	↓	2.15	↑	0.20	↓
	M339T602	Glepidotin B	601.70	0.42	↓	3.60	↑	0.12	↓
	M309T636	Artocarbene	635.71	0.39	↓	5.4	↑	0.07	↓
	M285T697	2,3-Dihydroxycyclopentaneundecanoic acid	697.12	0.49	↓	3.34	↑	0.15	↓
脂类及类脂类	M309T636	Artocarbene	635.71	0.39	↓	5.40	↑	0.07	↓
	M279T777	Linoleic acid	776.97	46.68	↑	2.08	↑	22.46	↑
	M474T577	LysoPE(0:0/16:0)	576.83	0.24	↓	3.03	↑	0.08	↓
	M599T585	1-stearoyl-sn-glycero-3-phospho-1D-myo-inositol	585.12	2.80	↑	0.35	↓	7.97	↑
	M489T68	Fluocinolone Acetonide	68.36	0.38	↓	2.84	↑	0.13	↓
	M475T590	Lucidenic acid G	590.22	0.32	↓	3.09	↑	0.10	↓
	M339T602	Glycinoeclepin B	601.7	0.42	↓	3.6	↑	0.12	↓
	M337T649	Dodecyl gallate	648.72	0.37	↓	4.37	↑	0.09	↓
苯类	M426.T668	Dihydroxyacidissiminol	668.01	0.43	↓	2.4	↑	0.18	↓
	M339T680	Bisphenol A diglycidyl ether	679.8	0.35	↓	7.97	↑	0.04	↓
	M123T448	3-Methylcatechol	448.29	0.44	↓	4.72	↑	0.09	↓
	M212T284	4-Hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene	284.13	0.26	↓	3.24	↑	0.08	↓
	M176T258	Gabaculine	258.25	0.49	↓	2.08	↑	0.23	↓
有机酸类	M230T272	Norepinephrine sulfate	272.2	0.40	↓	2.55	↑	0.16	↓
	M243T319	Penicillenic acid	318.51	0.30	↓	2.08	↑	0.14	↓
	M305T450	Cysteiny-Tyrosine	449.53	0.07	↓	0.17	↓	0.44	↓
	M232T477	N-Phenylacetylaspartic acid	476.84	0.45	↓	3.26	↑	0.14	↓
	M310T636	Imazethapyr	635.79	0.39	↓	2.7	↑	0.15	↓
生物碱类	M294T607	Piperolactam D	607.07	0.36	↓	2.15	↑	0.17	↓
	M539T659_2	Hodgkinsine	658.77	0.31	↓	2.25	↑	0.14	↓
木脂素	M337T683	Otobanone	682.77	0.26	↓	6.12	↑	0.04	↓
甾醇	M533T558	Cucurbitacin H	558.42	6.12	↑	2.86	↑	2.14	↑
有机锡化合物	M651T431	Tributyltin chloride	431.2	2.16	↑	7.52	↑	0.29	↓
有机氧化合物	M696T431	Neocarcinostatin chromophore	430.72	2.59	↑	7.89	↑	0.33	↓
杂环类	M195T632	m-Chlorophenylpiperazine	632.27	0.13	↓	3.13	↑	0.04	↓

续表 4

类别	注释编号	名称	rt/s	FC	Trend B-A	FC	Trend B-C	FC	Trend C-A
有机卤素化合物	M591T657_2	Panaxydol chlorohydrin	656.5	0.46	↓	2.07	↑	0.22	↓
	M646T77	7-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,5-bis({[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy})-1λ ⁴ -chromen-1-ylum	76.56	0.48	↓	2.51	↑	0.19	↓
	M239T266	3-(6-hydroxy-7-methoxy-2H-1,3-benzodioxol-5-yl)propanoic acid	265.87	0.37	↓	2.77	↑	0.13	↓
	M713T401	Indomethacin	400.98	2.62	↑	8.98	↑	0.29	↓
其他类	M491T539	3-(3,5-dihydroxyphenyl)-2-(4-hydroxyphenyl)-4-[(E)-2-(4-hydroxyphenyl)ethenyl]-2,3-dihydro-1-benzofuran-5,6-diol	539	2.23	↑	5.62	↑	0.40	↓
	M227T386	2-oxo-3-(2,3,4,5-tetrahydroxyphenyl)propanoic acid	385.96	0.20	↓	2.71	↑	0.07	↓
	M709T401	6-(4-{3-[(6-{[(2-carboxyacetyl)oxy]methyl}-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]oxy]-5,7-dihydroxy-4-oxo-4H-chromen-2-yl}phenoxy)-3,4,5-trihydroxyoxane-2-carboxylic acid	400.9	2.68	↑	7.87	↑	0.34	↓

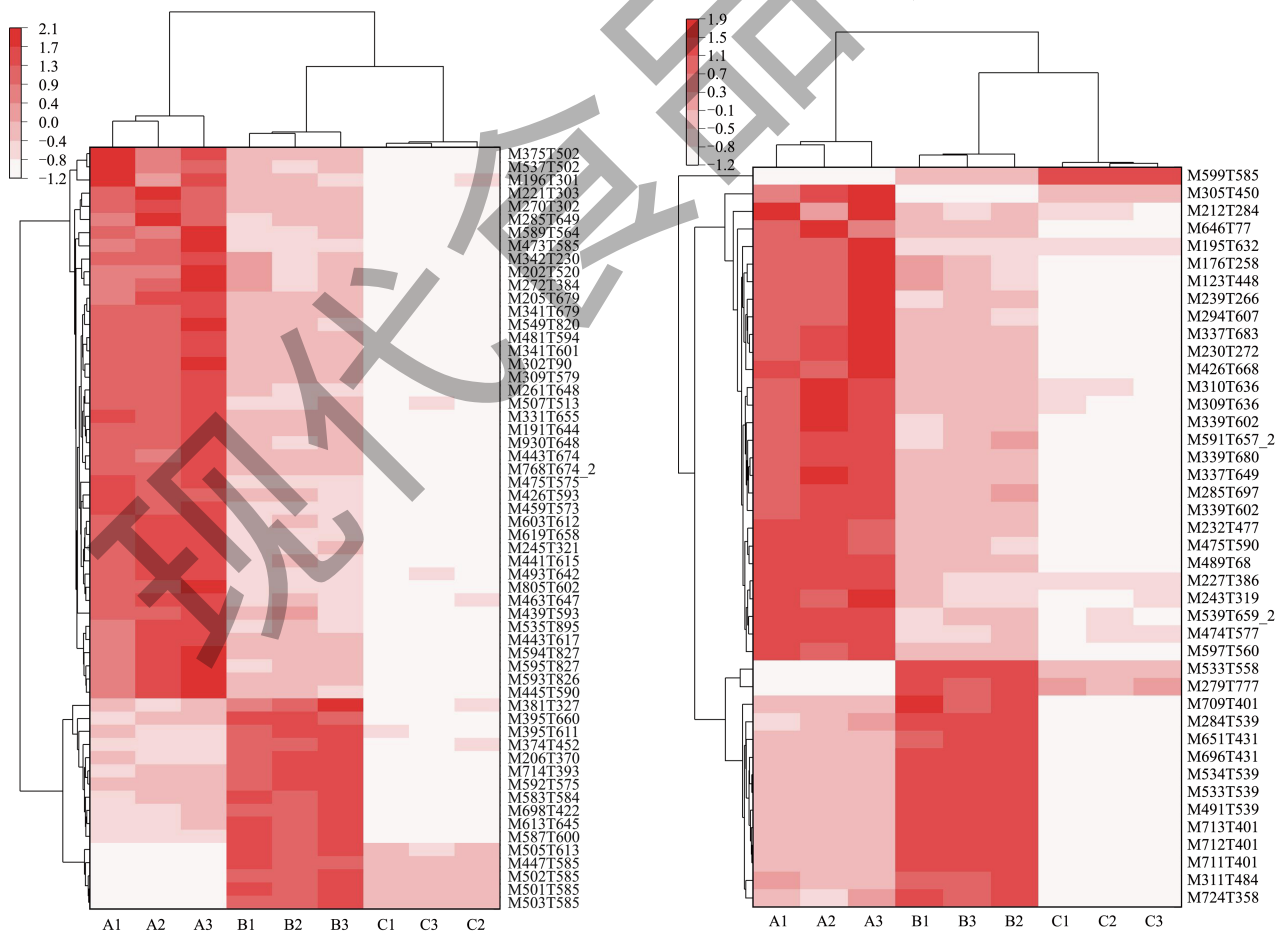


图 6 正负离子模式共有显著差异代谢物热图

Fig.6 Positive and negative ion patterns share significantly different metabolite thermograms

注: 左为正离子模式, 右为负离子模式。

根据各组共有显著差异代谢物的峰面积,将数据标准化处理后作正负离子模式代谢物热图(图6),图中纵坐标为代谢物注释编号,横坐标为样本A、B、C及其生物学重复,颜色越深表示该代谢物峰面积越大,相对含量越高,从图6可以看出,三个样本之间组间差异大而组内差异小,正负离子模式都呈现出相似结果,表明不同冲饮方式制备的参灵茶的代谢物和种类各有差异,能明显区分,与上文中电子舌PCA分析结果一致。

2.3.5 KEGG通路

不同代谢物之间的相互协调作用使得生物体具有相应的功能,通过对生物体中KEGG通路的详细分析更有助于了解不同生物在代谢组水平上的生物学功能。利用筛选出的共有显著差异代谢物的KEGG ID进行通路分析,得到正负离子模式的代谢途径共12条,分别为硝基甲苯降解(Nitrotoluene Degradation)、花青素生物合成(Anthocyanin Biosynthesis)、烯二炔类抗生素的生物合成(Biosynthesis of Eneidyne Antibiotics)、黄酮和黄酮醇的生物合成(Flavone and Flavonol Biosynthesis)、黄酮类生物合成(Flavonoid Biosynthesis)、亚油酸代谢(Linoleic Acid Metabolism)、不饱和脂肪酸的生物合成(Biosynthesis of Unsaturated Fatty Acids)、色氨酸代谢(Tryptophan Metabolism)、类胡萝卜素生物合成(Carotenoid Biosynthesis)、类固醇激素生物合成(Steroid Hormone Biosynthesis)、卟啉代谢(Porphyrin Metabolism)、异喹啉生物碱生物合成(Isoquinoline Alkaloid Biosynthesis)。

3 讨论

不同冲饮方式制备的参灵茶在电子舌酸味上差异明显,与酸味有关的代谢产物是有机酸类化合物,通过分类信息可知,正负离子模式分别得到有机酸类化合物4个和6个,占总量的6.9%和14.3%,袁萌等^[30]通过代谢组学研究发现山楂、丹参等药材的酸味与其中的有机酸类化合物关联性较强;曹琦等^[31]采用代谢组学技术测定脐橙桔水时有机酸类物质的变化情况时,发现随着有机酸类物质含量的降低,会导致果实的酸味丧失,原因是有机酸类物质随失水而降解;符明文等^[32]发现有机酸类化合物的含量对鱿鱼中酸味有显著影响;郭精桐等^[33]在研究番茄果实风味及其影响因素时也证实,在多种作用(酶、光合作用、呼吸作用)共同参与下,番茄中

的多种有机酸含量得以保持平衡,进而影响其风味。因此,有机酸类化合物及其表达情况可能是本研究中A(煮沸)、B(焖煮)、C(冷泡)三个样本在酸味响应值上存在差异的原因。酸味响应值 $C > B > A$,而B-C组中有机酸类代谢物呈上调趋势(样本C相较于样本B上调)、C-A组中有机酸类代谢物呈下调趋势(样本A相较于样本C下调),表明样本C(冷泡)中有机酸类代谢物相对含量更高,与电子舌结果符合。

与B-A组(焖煮 vs 煮沸)相比,B-C组(焖煮 vs 冷泡)和C-A组(冷泡 vs 煮沸)在两种模式下都检测到更多数量的差异代谢物,而3种方式之间区别因素是温度的差异。王智璠等^[34]采用代谢组学分析方法对不同炖煮温度燕窝制品进行研究,结果表明随着炖煮温度的变化,其中的某些次生代谢物的含量会发生变化,高温炖煮后含量减少,低温炖煮时含量升高;Zhou等^[35]研究大叶黄茶烘焙过程中化学成分的变化,发现焙火前后的茶叶样品明显不同,焙火后游离氨基酸的含量显著下降,但表儿茶素的含量大幅上升。感官评价结果也表明,冷泡的茶汤在口感上略逊色于另外两种方式,说明温度的差异会带来感官品质的变化,钟秋生等^[36]在研究不同烘焙处理对岩茶的感官和化学成分的差异时也得出,不同的处理温度会带来代谢产物种类和含量的变化,表明低温或中温更利于提升茶汤品质。综上所述,温度可能是本研究中引起不同冲饮方式茶汤感官差异、代谢物差异的重要因素,持续高温(样A)可能导致样本中代谢物种类减少,而适宜的温度可能是样本B、C中代谢物数量和相对含量更高的原因,温度的升高和降低会对样本中代谢物及其表达情况产生极大影响,进而影响茶汤的感官品质,但这些代谢物如何影响茶汤感官、其含量与滋味之间是否存在关联,还需进一步研究。

4 结论

本研究使用感官评价、电子舌与LC-MS等方法,结合单变量统计分析与多元统计分析进行组间差异分析,再通过KEGG数据库筛选出共有差异代谢物的代谢途径。电子舌分析结果表明三种方式在各个滋味上各有差异,酸味具有显著差异;代谢组学分析结果显示,两种模式下三个组共有差异代谢物100种,正离子模式以脂类化合物为主,负离子

模式以苯丙素和聚酮类为主,通过KEGG通路分析发现新陈代谢、异生菌生物降解和代谢、萜类化合物和聚酮的代谢、脂类代谢、氨基酸代谢、辅助因子和维生素的代谢以及其他次生代谢物的生物合成等是不同冲饮方式样本中共有差异代谢物的主要代谢途径。结合感官评价和电子舌滋味测定结果,焖煮酸味适中,与煮沸和冷泡方式相比,焖煮方式检测到更多的代谢产物,且长时间的煮沸可能会破坏其中的营养成分,加重茶汤中灵芝苦味,而冷泡方式可能更适用于茶叶,如绿茶、红茶等,综上结果,参灵茶更适合以焖煮方式饮用。本研究以期为人参、灵芝等药食同源中药进一步开发利用、同时为其他药食同源中药代用茶及其滋味和成分的相关研究提供一定参考。

参考文献

- [1] 马传贵,张志秀,闫梅霞,等.灵芝的活性成分及其抗肿瘤研究进展[J].食药菌,2022,30(2):114-118.
- [2] 马礼金,姚汝华.灵芝的药用及食用研究[J].食品与发酵工业,1998,24(1):62-66.
- [3] 唐晓璇.灵芝醋饮料的制备工艺及抗氧化活性的比较[D].济南:齐鲁工业大学,2015.
- [4] 郭莹莹.富硒灵芝功能酱油的初步研制[D].淮北:淮北师范大学,2012.
- [5] 何友建.灵芝复合茶饮料加工技术的研究[D].福州:福建农林大学,2010.
- [6] 李慧盈,张毅.桑精颗粒联合生活方式干预阴虚火旺型中低危血脂异常的临床研究[J].中西医结合心脑血管病杂志,2023,21(21):3976-3979.
- [7] 钱琳琳,马晓北.《温病条辨》运用麦冬撮菁[J].中国中医基础医学杂志,2022,28(3):448-450.
- [8] 金斐,朱丽云,高永生,等.植物源活性成分降血糖作用及其机理研究进展[J].食品科学,2021,42(21):322-330.
- [9] 杨映映,邱莎,李青伟,等.桑叶的配伍经验及用量探究[J].世界中医药,2019,14(4):1051-1055.
- [10] 王若男,钱程,郑鹏,等.黄精发酵液制备工艺优化及其抗氧化活性分析[J].中国酿造,2022,41(5):153-158.
- [11] 沈维治,廖森泰,邹宇晓,等.不同类型桑种质资源的桑叶总多酚及单体酚类物质含量测定[J].蚕业科学,2014,40(3):5.
- [12] 陈克克,史丽,李莺,等.黄精总黄酮和总酚的含量测定[J].陕西农业科学,2012,58(1):58-60.
- [13] REN G X, LI T H, WEI Y M, et al. Estimation of Congou black tea quality by an electronic tongue technology combined with multivariate analysis [J]. Microchemical Journal, 2021, 163(1): 105899.
- [14] DENG X J, HUANG G H, DU Q J, et al. Evolution analysis of flavor-active compounds during artificial fermentation of Puerh tea [J]. Food Chemistry, 2021, 357(2): 129783.
- [15] VITORIA D M G, Souza M M, Cristini P G, et al. The use of electronic tongue and sensory panel on taste evaluation of pediatric medicines: a systematic review [J]. Pharmaceutical Development and Technology, 2020, 26(1): 1-19.
- [16] WANG K, ZHUANG H N, FANG L B, et al. Evaluation of eight kinds of flavor enhancer of umami taste by an electronic tongue [J]. Food Science & Nutrition, 2021, 9(4): 2095-2104.
- [17] NICHOLSON J K, Lindon J C, Holmes E. '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.
- [18] 刘荣华,俞洪华,殷茜茜,等.LC-MS在中药代谢组学中的应用进展[J].亚太传统医药,2021,17(9):183-191.
- [19] 袁琛凯,杨俊,石敏,等.基于指标成分指纹图谱技术结合LC-MS的蜂蜜质量分析[J].粮食与食品工业,2022,29(2):68-72.
- [20] 杨文婉.LC-MS法测定饮料中的甜蜜素含量[J].中国食品工业,2020(14):55-57.
- [21] 彭玉娇,崔学宇,邵元元,等.利用LC-MS技术解析黑果枸杞、红果枸杞代谢物的差异[J].食品与生物技术学报,2021,40(9):56-63.
- [22] 莫韩御,苏小军,李清明,等.基于响应面法优化桑葚袋泡茶配方的研究[J].食品研究与开发,2017,38(12):76-82.
- [23] 王丹丹,凌霞,王念,等.基于电子舌技术对市售生抽酱油滋味品质的评价[J].食品与发酵工业,2017,43(6):244-249.
- [24] 祝晓云,蒋永梅,余家奇,等.非靶向代谢组学分析不同品种青花菜的化学成分差异[J].种子,2023,42(9):49-61.
- [25] 刘含,郭银萍,穆兴燕,等.刺梨不同提取物的非靶向代谢组学比较与分析[J].食品与发酵工业,2024,50(2):312-320.
- [26] 聂新,杨展,宗晓婕,等.基于非靶向代谢组学鉴定不同蜜源蜂巢生物活性成分[J].食品研究与开发,2023,(22):141-149.
- [27] 贺佳诺,张阳,郑雨佳,等.基于非靶向代谢组学研究不同炮制方法郁李仁对于小鼠肝脾代谢调节作用[J].中国中药杂志,2024,49(5):1225-1239.
- [28] 王向东,马艳芝,张胜珍,等.基于广泛靶向代谢组学的不同干燥方式丹参成分差异分析[J].河北农业大学学报,2023,46(3):120-129.
- [29] 刘芹,师子文,吴杰,等.基于非靶代谢组学的糙皮侧耳子实体发育的关联物质及主要代谢通路分析[J].菌物学报,2024,43(2):59-73.
- [30] 袁萌.化学计量学在心可舒片质量分析及评价中的应用研究[D].济南:山东大学,2022.
- [31] 曹琦.桔水脐橙果实品质劣变及其规律研究[D].重庆:西南大学,2017.
- [32] 符明文,蔡燕萍,刘建华,等.印度洋鸢乌贼肌肉酸味相关物质的分析[J].食品科学,2020,41(16):185-192.
- [33] 郭精桐,赵圆,孙玉敬.番茄果实风味及其影响因素的研究进展[J].食品科学,2023,44(17):169-177.
- [34] 王智璠,林小仙,阴佳璐,等.不同炖煮温度燕窝次生代谢化学成分组学[J].山东大学学报(医学版),2023,61(4):10-17.
- [35] ZHOU J, WU Y, LONG P, et al. LC-MS-based metabolomics reveals the chemical changes of polyphenols during high-temperature roasting of large-leaf yellow tea [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 2019, 67(19): 5405-5412.
- [36] 钟秋生,彭佳堃,戴伟东,等.基于UPLC-Q-Exactive/MS的不同烘焙处理岩茶化学成分差异分析[J].食品科学,2023,20:268-282.