

文章编号:1000-8551(2013)01-0047-09

# 茶叶中同位素与多元素特征及其 原产地 PCA-LDA 判别研究

袁玉伟<sup>1</sup> 张永志<sup>1</sup> 付海燕<sup>2</sup> 韩文炎<sup>3</sup> 李淑芳<sup>4</sup> 杨桂玲<sup>1</sup> 张志恒<sup>1</sup>

(1. 浙江省农业科学院农产品质量标准研究所,浙江 杭州 310021;

2. 中南民族大学药学院,湖北 武汉 430074; 3. 中国农业科学院茶叶研究所,浙江 杭州 310008;

4. 河南省农业科学院农业质量标准与检测技术研究中心,河南 郑州 450002)

**摘要:**本研究采用稳定同位素质谱和等离子发射光谱质谱法测定茶叶中同位素比率和多元素含量,并结合主成分分析(PCA)和线性判别分析(LDA)法建立模型,对福建、山东和浙江出产的茶叶,以及浙江余姚、金华和西湖出产的茶叶进行产地溯源判定。结果表明,不同产地的茶叶中稳定同位素 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta\text{D}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 数值范围不同,而且Li、Be和Na等27个矿物元素的含量变化也较大,具有一定的地域特征。PCA法能够区分不同产地的茶叶,但不同产地样本存在部分重合;而采用PCA-LDA法能够有效区分不同产地的茶叶,其中福建、山东和浙江产地的判定准确率为99%,浙江余姚、金华和西湖产地的判定准确率为86%。因此,利用稳定同位素和矿物多元素检测结合PCA-LDA法能够较好进行茶叶产地溯源,具有一定的可行性和应用价值。

**关键词:**茶叶;稳定同位素;多元素;主成分分析;线性判别分析

## APPLICATION OF PCA-LDA METHOD TO DETERMINE THE GEOGRAPHICAL ORIGIN OF TEA BASED ON DETERMINATION OF STABLE ISOTOPES AND MULTI-ELEMENTS

YUAN Yu-wei<sup>1</sup> ZHANG Yong-zhi<sup>1</sup> FU Hai-yan<sup>2</sup> HAN Wen-yan<sup>3</sup> LI Shu-fang<sup>4</sup>  
YANG Gui-ling<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-heng<sup>1</sup>

(1. Institute of Quality and Standard for Agro-products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou Zhejiang 310021;

2. College of Pharmacy, South-central University for Nationalities, Wuhan Hubei 430074;

3. Tea Research Institute, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Hangzhou Zhejiang 310008;

4. Research Center of Agricultural Quality Standards and Testing Techniques, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou Henan 450002)

**Abstract:** The ratio of stable isotope and concentration of multi-element in tea was determined with isotope ratio mass spectrometry (IRMS) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Pattern recognition techniques with principal component analysis (PCA) and linear discriminant analysis (LDA) were used to classify the geographical origins of tea from Fujian, Shandong and Zhejiang province, and Yuyao, Jinhua and Xihu region of Zhejiang. The results showed the values of  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta\text{D}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  and the ratios of  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ,  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  and  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  in tea samples were different from different origins. There was also large variable for the concentrations of 27 mineral elements, such as Li, Be, Na and so on, with a specific character of origin. The method of PCA could be used to classify the geographical

收稿日期:2012-09-10 接收日期:2012-11-06

基金项目:国际原子能机构合作项目(16567-RO),公益性行业(农业)科研专项项目(201203046),国家国际科技合作项目(2012DFA31140),浙江省农业科学院创新提升工程项目(2011R19Y01E01),浙江省重点科技创新团队项目(2010R50028)

作者简介:袁玉伟(1975-),男,山东日照人,博士,副研究员,从事农产品质量安全与产地溯源技术研究. Tel:0571-86406862; E-mail: ywytea@163.com.

origin of tea from different origins but with a cross in the scatter plot. However, PCA combining with LDA could give correct assignment percentages of 99% for the tea samples among Fujian, Shandong and Zhejiang provinces, and 87% for the tea samples among Yuyao, Jinhua and Xihu region of Zhejiang. These results revealed that it was possible and feasible to classify the geographical origin of tea by the method of PCA-LDA based on the determination of isotopes and multi-elements.

**Key words:** tea (*Camellia sinensis*); stable isotope; multi-element; PCA; LDA

茶叶是我国重要的经济农作物,种植范围广泛,种类众多,位列世界三大饮料之首(茶叶、可可和咖啡),文化底蕴深厚,地域特色和品质特征明显,是典型的地理标志保护产品。自2001年起,国家质检总局正式对“龙井茶”实施地域产品保护,是第一个实施原产地域(地理标志)产品保护的茶叶品种<sup>[1]</sup>,后来相继出现“武夷山大红袍”、“婺源大鄣山”和“信阳毛尖”等茶叶产品,到2008年茶叶地理标志产品就达50个左右<sup>[2]</sup>。龙井茶是浙江著名特产之一,可分为西湖产区、钱塘产区和越州产区,其产量和产值分别占浙江茶叶生产总量的13.6%和32.5%<sup>[3]</sup>,其中以西湖龙井茶最受消费者的喜爱,也是最容易被仿冒的地理标志产品之一。

近年来,国内研究人员开展了茶叶的产地溯源检测和判定技术研究。如Zhou等<sup>[4]</sup>、周健等<sup>[5-6]</sup>利用近红外光谱扫描和主成分判定技术,以及王丽鸳等<sup>[7-8]</sup>、成浩等<sup>[9-10]</sup>采用化学指纹图谱扫描技术对龙井茶和武夷岩茶等进行了产地溯源和品种鉴别,但由于这些技术容易受茶叶品种、加工和环境等因素的影响而具有一定的局限性。同位素和多元素检测溯源技术具有受产地环境、加工方法和品种差异等因素影响小的特点,国外开展应用于食品产地溯源和鉴别。如Gremaud等<sup>[11]</sup>、Suzuki等<sup>[12]</sup>和Camin等<sup>[13]</sup>分别对瑞士葡萄,日本大米和意大利蓝莓等进行了产地溯源研究; Marcos

等<sup>[14]</sup>、Moreda-Pineiro等<sup>[15]</sup>和Pilgrim等<sup>[16]</sup>采用该技术,结合主成分分析开展了不同国家和地区茶叶的产地溯源研究<sup>[14-16]</sup>。

本文采用稳定同位素和矿物多元素检测,并结合主成分分析和线性判别分析,初步对福建、浙江和山东产茶叶进行产地溯源和判别,探讨用于茶叶产地溯源和地理标志产品保护的可行性,并为西湖龙井茶等名优茶的原产地保护提供借鉴和技术支持。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

茶叶样品主要采集于福建、山东和浙江三省,种类为乌龙茶和绿茶,总样品量为33个,具体见表1。福建茶样和山东茶样由当地茶叶企业提供,浙江茶叶样品采集余姚、金华(义乌、武义)和西湖区等三产地,其中西湖区(九溪、梅家坞、双峰、龙井和茅家埠)茶样为采集一芽一叶/两叶的鲜叶,经过家用微波炉(G80F23N1P-M8(SO),广东格兰仕集团)杀青2min(分两次杀青)后用电烘箱(DHG-9070A,上海精宏实验设备公司)于60℃条件下烘干;其余样品也由当地企业提供。

表1 试验中茶叶样品数量及原产地

Table 1 Numbers and origin of tea sample in experiment

产地 origin	种类 type	数量/个 number	产地 origin	种类 type	数量/个 number
福建 (n=4)	漳州 乌龙茶	4	浙江 (n=26)	余姚 绿茶	2
				金华 绿茶	10
山东 (n=3)	青岛 绿茶/红茶	2		西湖区 绿茶	14
	日照 绿茶	1			

### 1.2 样品处理

进行稳定同位素和矿物多元素检测前,用家用粉碎机(HR2864,飞利浦公司)对茶叶样品进行粉碎处理,粉末过60目筛后装入样品袋,待测。

### 1.3 样品检测

1.3.1 稳定同位素检测 (1)稳定性碳、氮同位素比率检测:称取约3.85~6.75mg待测样,用锡箔杯包好后放置于元素分析仪(Elementar vario PYRO cube,德国Elementar公司)样品盘中,样品中的碳元素和氮元素转化为纯净的CO<sub>2</sub>和N<sub>2</sub>气体后,进入同位素质谱仪

(Isoprime 100, 英国 isoprime 公司) 检测。具体条件: 元素分析仪氦气吹扫流量为  $230\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 氧化炉和还原炉温度分别为  $1020^\circ\text{C}$  和  $650^\circ\text{C}$ , 进入质谱仪载气氦气流量为  $100\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

(2) 稳定性氧、氢同位素比率检测: 称取  $0.30 \sim 0.60\text{mg}$  样品, 用银杯包好后放置于元素分析仪样品盘中, 样品经燃烧炉高温裂解后, 进入同位素质谱仪检测。氦气流量为  $125\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 燃烧炉温度为  $1450^\circ\text{C}$ 。

稳定性同位素比率计算公式为:

$$\delta\text{‰} = [(R \text{ 样品}/R \text{ 标准}) - 1] \times 1000 \quad (1)$$

R 样品: 所测样品中重同位素与轻同位素丰度比, 即  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 、 $^2\text{H}/^1\text{H}$ ;

R 标准: 国际标准样品中重同位素与轻同位素丰度比, 采用  $\delta^{13}\text{C}$  的参照标准为 V-PDB、 $\delta^{15}\text{N}$  的为空气、 $\delta^{18}\text{O}$  和  $\delta\text{D}$  的为标准平均海洋水 (SMOW)。

### 1.3.2 同位素比率和多元素检测

称取  $0.5\text{g}$  左右的茶叶样品于微波消解内罐, 加入  $4.0\text{ml}$  硝酸, 过夜; 再加入  $2\text{ml}$  双氧水,  $20\text{min}$  后, 拧上盖子, 套上防爆外套, 置于微波消解仪 (CEM Mars 5, 美国 CEM 公司) 的样品盘上, 采用温度控制模式, 先升温至  $120^\circ\text{C}$  (保持  $5\text{min}$ ), 然后升温至  $185^\circ\text{C}$  (保持  $30\text{min}$ ), 再升温至  $190^\circ\text{C}$  (保持  $5\text{min}$ ), 进行消解, 待冷却后, 拿出内罐, 开盖置于专用石墨加入器中, 进行赶酸处理, 再用超纯水将消解液转入  $25\text{mL}$  塑料离心管中, 定容摇匀, 过滤, 上 ICP-MS (Thermo Fisher X-series II, 美国, 热电公司) 进行测定。同位素比值测定选取同位素比率测定模式, 多元素测定时用铑和铼做为内标溶液 ( $1\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 监控和校正仪器漂移。

### 1.4 统计分析模型建立

主成分分析 (Principal Components Analysis, 简称 PCA) 方法是在数据空间中找出一组向量, 用此向量来尽可能的表达数据的方差, 将数据从高维降低到低维, 主成分的个数主要由累计贡献率来决定, 通常累计贡

献率达到  $80\% \sim 90\%$  时就可以用主成分代替原始变量做进一步的分析<sup>[17]</sup>。采用主成分分析和线性判别分析 (PCA-LDA) 对茶叶原产地进行判别, F-检验判断各区域量测变量之间是否存在差异。数据分析前先将原始数据标准化, 然后采用 PCA 法进行降维处理, 蒙特卡洛法从各个区域中随机选定一部分样本, 利用 LDA 进行建模, 对剩余的样本进行判别验证, 重复  $2000$  次, 统计其准确率。所有数据分析均在 Matlab (2009b 版, 美国 MathWorks 公司) 环境中完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同产地茶叶中稳定性同位素的比率特征

由表 2 数据可知, 福建、山东和浙江三产地茶叶中稳定同位素  $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta\text{D}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$  的数值范围不同。茶叶中  $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$  的变化范围较小, 且各地的差异性不显著。如三产地茶叶中  $\delta^{13}\text{C}$  范围在  $-26.330\text{‰} \sim -27.249\text{‰}$ , 福建的略低于山东和浙江的; 而茶叶中  $\delta^{15}\text{N}$  在  $+2.406\text{‰} \sim +3.786\text{‰}$  之间, 其中山东的数值高于福建和浙江两地, 这可能与茶园的施肥种类有关。茶叶中  $\delta^{18}\text{O}$  和  $\delta\text{D}$  的变化范围较大, 其中浙江茶叶  $\delta^{18}\text{O}$  平均值为  $24.252\text{‰}$ , 明显高于福建的  $21.942\text{‰}$  和山东的  $21.219\text{‰}$ , 与福建和山东两地茶叶存在显著差异性 ( $p < 0.05$ ); 而浙江茶叶中  $\delta\text{D}$  的平均值为  $-56.528\text{‰}$ , 福建和山东的分别为  $-75.903\text{‰}$  和  $-81.243\text{‰}$ , 也存在显著性差异。不同产地茶叶中同位素数值特征不同, 如山东茶叶中  $\delta^{15}\text{N}$  平均值最高为  $+3.786\text{‰}$ , 而  $\delta\text{D}$  平均值却最低为  $-81.243\text{‰}$ ; 浙江茶叶中  $\delta^{18}\text{O}$  平均值却最高为  $-56.528\text{‰}$ ; 而福建产茶叶中各同位素  $\delta$  值大多居中, 位于山东和浙江之间。

浙江、福建和山东三产地茶叶中铅同位素比率  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ 、 $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  的变化范围小, 平均值范围分别为  $1.158 \sim 1.169$  和  $2.115 \sim 2.135$ , 福建和山东的数值相近, 而与浙江的存在显著差异。本试验表明, 各

表 2 茶叶中稳定同位素  $\delta$  值及含量比率

Table 2  $\delta$  value and ratio of stable isotopes in tea samples

同位素 stable isotope	平均值 $\pm$ 标准偏差 Mean $\pm$ S. D.		
	福建 Fujian (n = 4)	山东 Shandong (n = 3)	浙江 Zhejiang (n = 26)
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$2.628 \pm 2.851^a$	$3.786 \pm 1.057^a$	$2.406 \pm 1.806^a$
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$-27.249 \pm 0.430^a$	$-26.520 \pm 1.187^a$	$-26.330 \pm 1.284^a$
$\delta\text{D}$ (‰)	$-75.903 \pm 17.223^b$	$-81.243 \pm 24.496^b$	$-56.528 \pm 10.303^a$
$\delta^{18}\text{O}$ (‰)	$21.942 \pm 3.950^b$	$21.219 \pm 7.789^b$	$24.252 \pm 1.987^a$
$^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$	$1.158 \pm 0.003^a$	$1.169 \pm 0.007^a$	$1.159 \pm 0.015^b$
$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$2.135 \pm 0.011^a$	$2.115 \pm 0.013^a$	$2.125 \pm 0.043^b$
$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$14.121 \pm 12.541^a$	$6.889 \pm 2.600^a$	$16.024 \pm 12.829^a$

地茶叶中锶同位素 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  比值变化范围大,且高于正常的比值为0.710~0.709范围,如浙江的平均值为16.024,福建的为14.121,山东的为6.889,这主要是由于仪器灵敏度受到样品中元素Rb的干扰而引起比值偏高。但统计分析表明,各地茶叶中 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  比率没有显著性差异,且主成分分析时需要进行标准化处理,这可消除背景干扰。

各地茶叶中稳定同位素的主要特征分布也可以通过雷达图来表示,从图1看出,虽然不同产地茶叶中同位素 $\delta$ 值和含量比率有所差异,但特征分布上主要与 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 和 $\delta\text{D}$ 有关,其余同位素具有相同的分布趋势。这需要结合PCA和LDA等统计分析方法,来进行产地判定。

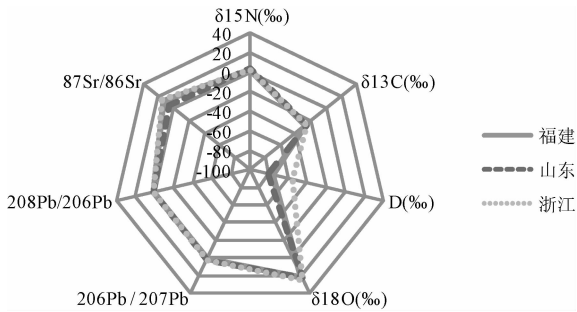


图1 茶叶中稳定同位素的雷达图

Fig. 1 Representation of stable isotopes in tea sample based on star plot

## 2.2 不同产地茶叶中矿物多元素的含量特征

不同品种和产地的茶叶中矿物元素含量不同,影响其品质特征,如Al、As、Ti、Si、P、Zn的含量与茶叶品质有显著的相关性,这与产地环境、栽培方式和品种等

因素有关<sup>[18]</sup>。

不同产地茶叶中矿物多元素的含量如表3所示,27种矿物元素的含量变化较大,甚至相差几个数量级,且相同元素在不同产地茶叶中的含量也差异很大,平均值相差数倍之多。其中,Mg、Al、K、Ca、Mn、Fe等6种元素的含量超过 $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,含量范围变化较大,其中山东茶叶中Mg、K、Mn和Fe的含量最高,而福建和浙江茶叶中的含量相近。Na、Ni、Cu、Zn、Rb、Sr和Ba等7种元素的含量范围在 $1\sim 100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,其中山东茶叶中Na、Ni、Cu等3种元素的含量高于浙江和福建的;而福建茶叶中Zn、Ba含量和浙江产茶中Sr含量与其他两省相比则较低,但各地茶叶中Rb的含量相近。统计分析表明,大多数元素在各地茶叶中的含量差异并不显著。Li、Be、V等其余14种元素的含量较低,均低于 $1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,含量存在显著性差异。

## 2.3 茶叶产地溯源判别模型的建立与验证

2.3.1 主成分分析(PCA) 采用PCA对标准化后的原始数据进行降维处理时,前9个特征矢量所对应的累积方差为87%,已经能有效提取出数据中的信息,PC1、PC2、PC3、PC4、PC5、PC6、PC7、PC8和PC9的权重分别为22.33%、16.32%、13.09%、10.35%、8.11%、5.30%、4.24%和2.91%。从表4看出,各主成分中量测变量的载荷不同,其中PC1中 $\delta\text{D}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 、 $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ 、 $^{24}\text{Mg}$ 、 $^{39}\text{K}$ 、 $^{55}\text{V}$ 、 $^{95}\text{Mo}$ 等变量的载荷系数较大,可以代表PC1的载荷特征。因此,通过PCA降维处理后,原始数据最终转换为一个大小为 $34\times 9$ 的数据矩阵,从而满足LDA时样本数量须大于量测变量数的需要。

表3 不同产地茶叶中矿物多元素的含量

Table 3 Concentration of mineral elements in tea sample for different origins

元素 element	平均值 ± 标准偏差 Mean ± SD( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )			元素 element	平均值 ± 标准偏差 Mean ± SD( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )		
	福建	山东	浙江		福建	山东	浙江
	Fujian (n = 4)	Shandong (n = 3)	Zhejiang (n = 26)		Fujian (n = 4)	Shandong (n = 3)	Zhejiang (n = 26)
$^7\text{Li}$	$0.085 \pm 0.038^b$	$0.445 \pm 0.178^a$	$0.126 \pm 0.057^b$	$^{66}\text{Zn}$	$12.16 \pm 2.10^a$	$25.61 \pm 6.89^a$	$27.24 \pm 4.12^a$
$^9\text{Be}$	$0.002 \pm 0.002^a$	$0.023 \pm 0.005^{ab}$	$0.007 \pm 0.009^b$	$^{69}\text{Ga}$	$0.139 \pm 0.020^a$	$0.88 \pm 0.12^b$	$0.68 \pm 0.38^b$
$^{23}\text{Na}$	$28.16 \pm 18.01^b$	$91.00 \pm 86.35^a$	$23.99 \pm 14.10^b$	$^{85}\text{Rb}$	$55.25 \pm 26.06^a$	$46.36 \pm 12.97^a$	$57.20 \pm 32.05^a$
$^{24}\text{Mg}$	$1147.34 \pm 215.64^a$	$2434.79 \pm 275.41^a$	$1304.83 \pm 484.94^a$	$^{88}\text{Sr}$	$19.87 \pm 13.78^a$	$19.25 \pm 3.76^a$	$10.86 \pm 9.13^a$
$^{27}\text{Al}$	$723.03 \pm 57.54^a$	$695.82 \pm 47.40^a$	$366.75 \pm 78.42^a$	$^{95}\text{Mo}$	$0.139 \pm 0.090^a$	$1.06 \pm 0.13^a$	$0.39 \pm 0.34^a$
$^{39}\text{K}$	$11100.94 \pm 894.90^b$	$23330.61 \pm 726.12^b$	$19978.50 \pm 10082.81^a$	$^{107}\text{Ag}$	$0.004 \pm 0.003^a$	$0.005 \pm 0.004^a$	$0.03 \pm 0.06^b$
$^{44}\text{Ca}$	$6052.73 \pm 601.79^a$	$4238.45 \pm 494.32^a$	$3231.21 \pm 1284.40^a$	$^{111}\text{Cd}$	$0.018 \pm 0.010^a$	$0.045 \pm 0.024^a$	$0.038 \pm 0.016^a$
$^{51}\text{V}$	$0.000 \pm 0.000^c$	$0.563 \pm 0.035^a$	$0.376 \pm 0.486^b$	$^{115}\text{In}$	$0.008 \pm 0.000^c$	$0.000 \pm 0.000^a$	$0.010 \pm 0.028^b$
$^{52}\text{Cr}$	$0.613 \pm 0.187^b$	$5.40 \pm 1.79^a$	$1.05 \pm 0.30^b$	$^{133}\text{Cs}$	$0.121 \pm 0.015^a$	$0.115 \pm 0.012^b$	$0.128 \pm 0.064^b$
$^{55}\text{Mn}$	$669.84 \pm 617.86^a$	$1091.58 \pm 135.84^a$	$911.02 \pm 530.90^a$	$^{138}\text{Ba}$	$4.06 \pm 0.68^a$	$26.84 \pm 4.01^b$	$24.87 \pm 20.29^b$
$^{56}\text{Fe}$	$109.31 \pm 28.68^a$	$451.54 \pm 41.13^a$	$139.45 \pm 31.02^a$	$^{205}\text{Tl}$	$0.22 \pm 0.02^a$	$0.022 \pm 0.003^{ab}$	$0.017 \pm 0.009^b$
$^{59}\text{Co}$	$0.154 \pm 0.064^a$	$0.966 \pm 0.215^b$	$0.51 \pm 0.31^b$	$^{208}\text{Pb}$	$0.70 \pm 0.19^a$	$1.03 \pm 0.73^a$	$0.90 \pm 0.48^a$
$^{60}\text{Ni}$	$2.22 \pm 0.45^a$	$17.12 \pm 3.48^b$	$7.59 \pm 2.38^b$	$^{209}\text{Bi}$	$0.011 \pm 0.004^b$	$0.000 \pm 0.000^c$	$0.021 \pm 0.039^a$
$^{65}\text{Cu}$	$6.63 \pm 1.39^b$	$17.98 \pm 9.21^a$	$14.50 \pm 3.68^b$				

表 4 茶叶中主成分信息表

Table 4 Information of principal component for variables in tea sample

量测变量 variables	主成分 principal components								
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
$\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$	0.16	0.05	0.04	0.20	0.30	-0.04	-0.05	-0.24	-0.34
$\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$	0.08	-0.16	-0.10	0.40	-0.13	0.16	0.04	0.21	-0.21
$\delta\text{D}(\text{‰})$	0.25	-0.06	0.02	-0.09	-0.15	-0.28	0.26	0.13	-0.10
$\delta^{18}\text{O}(\text{‰})$	0.15	-0.19	0.07	-0.06	-0.21	-0.23	0.27	0.31	-0.20
$^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$	0.18	-0.25	-0.09	-0.11	0.03	0.09	-0.03	0.10	-0.13
$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	-0.19	0.27	0.05	0.05	0.08	-0.22	0.11	0.00	-0.29
$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	-0.02	0.09	-0.38	-0.23	-0.12	0.04	-0.07	0.24	-0.14
$^7\text{Li}$	-0.06	-0.36	0.11	-0.08	0.14	-0.11	-0.10	0.04	0.00
$^9\text{Be}$	-0.10	-0.33	0.07	-0.08	0.05	-0.05	0.20	0.07	-0.04
$^{23}\text{Na}$	0.07	0.01	0.29	-0.05	-0.29	-0.14	-0.38	0.04	-0.08
$^{24}\text{Mg}$	0.29	0.01	0.09	-0.08	-0.02	0.08	0.14	-0.21	0.35
$^{27}\text{Al}$	-0.04	0.13	0.28	-0.26	0.28	0.04	0.09	-0.10	0.00
$^{39}\text{K}$	0.31	0.06	0.14	-0.08	-0.07	0.02	0.16	-0.12	0.09
$^{44}\text{Ca}$	-0.32	-0.09	0.04	0.08	0.02	0.01	-0.09	0.09	-0.10
$^{51}\text{V}$	0.20	0.05	0.26	-0.15	-0.10	0.00	-0.10	0.09	-0.19
$^{52}\text{Cr}$	-0.02	-0.12	0.07	-0.02	-0.03	-0.51	0.05	0.12	0.27
$^{55}\text{Mn}$	0.15	-0.11	0.14	-0.26	0.30	-0.09	-0.11	-0.14	-0.09
$^{56}\text{Fe}$	-0.28	-0.08	0.07	0.03	-0.13	-0.21	0.04	-0.06	0.04
$^{59}\text{Co}$	0.01	-0.33	-0.08	-0.07	0.17	-0.02	-0.01	-0.17	-0.04
$^{60}\text{Ni}$	0.08	-0.11	-0.19	-0.19	-0.20	-0.20	-0.32	-0.13	-0.11
$^{65}\text{Cu}$	-0.11	-0.04	-0.13	-0.01	-0.18	-0.06	0.23	-0.55	-0.38
$^{66}\text{Zn}$	0.08	-0.14	-0.12	0.08	-0.31	-0.09	0.11	-0.41	0.31
$^{69}\text{Ga}$	-0.12	-0.08	0.31	0.01	-0.25	0.24	-0.20	-0.10	-0.10
$^{85}\text{Rb}$	-0.06	0.09	-0.20	-0.43	-0.16	0.05	0.01	0.06	0.05
$^{88}\text{Sr}$	-0.20	-0.06	0.25	0.01	0.12	0.15	0.15	0.16	0.27
$^{95}\text{Mo}$	0.30	0.08	0.13	-0.05	0.04	0.05	0.12	-0.01	-0.15
$^{107}\text{Ag}$	0.16	-0.03	0.07	0.26	-0.20	0.24	0.31	0.08	-0.04
$^{111}\text{Cd}$	-0.23	-0.21	0.16	-0.08	-0.05	0.02	0.15	-0.14	-0.05
$^{115}\text{In}$	0.08	-0.34	-0.16	0.04	0.11	0.18	-0.16	0.01	0.02
$^{133}\text{Cs}$	-0.18	0.05	-0.23	-0.21	-0.11	0.20	0.14	-0.05	0.06
$^{138}\text{Ba}$	-0.04	-0.03	0.31	-0.08	-0.35	0.22	-0.21	-0.05	-0.01
$^{205}\text{Tl}$	-0.05	-0.01	0.04	-0.40	-0.01	0.29	0.24	0.09	-0.15
$^{208}\text{Pb}$	-0.25	-0.17	0.14	0.00	-0.04	-0.03	0.22	0.00	-0.11
$^{209}\text{Bi}$	0.12	-0.35	-0.11	-0.01	0.09	0.17	-0.06	0.01	0.02

2.3.2 福建、山东和浙江茶叶的主成分分析 从图2可以看到,福建、山东和浙江33个茶叶样本的数据经降维处理后,在PC1和PC2组成的象限内大概分成3个区域,其中1,2,3,4号福建样本相对集中PC2的正象限和PC1的负象限,5,6,7号山东样本则在PC1和PC2的正象限,而其余浙江样品都相对集中一个区域,但是跨四个象限。其余PC3与PC2,PC3与PC1以及PC1、PC2和PC3构成的象限中,各地茶叶也有较好的区分,但是存在一定程度的重叠,需要结合LDA进一步区分。

2.3.3 浙江产区茶叶的主成分分析 图3表明,浙江金华、余姚和西湖区的26个样本在PC1和PC2构成的象限内得到较好的区分,其中西湖区样本(13-26)主

要集中在PC2的正象限和PC1的负象限,而金华样本(1-10)则集中在PC2和PC1的正象限,余姚的两个样本(11-12)则与西湖、金华的象限存在重叠。因此,单独利用PCA对浙江金华、余姚和西湖区产的茶叶进行区分还存在一定的难度,需要将数据进一步降维处理,利用LDA进行产地判别。

2.3.4 福建、山东和浙江各地茶叶PCA-LDA判别 LDA是用于判断样品所属类型的一种统计分析方法,使得PCA投影后不能再分的样本经LDA投影后则得到区分。本试验中,先随机选定一部分样本进行建模区分山东、福建、浙江等地茶叶,再对剩余的样本进行验证。

以其中一次判别为例,从不同区域中随机选择部

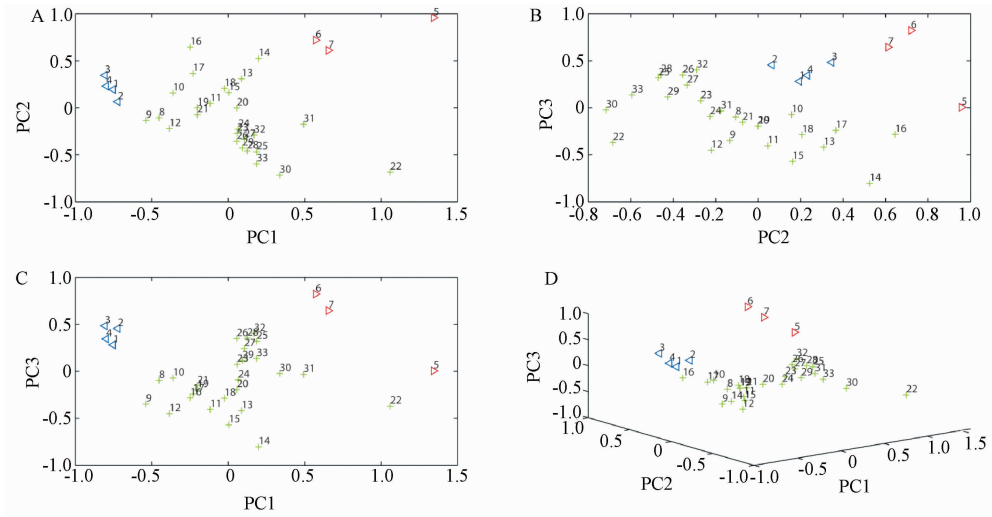


图 2 福建、山东和浙江茶叶样本前三个主成分的投影图

Fig. 2 PCA cross-plot of former three principal components of tea sample from Fujian, Shandong and Zhejiang

注:1-4 表示福建地区,5-7 为山东地区,8-33 为浙江地区

Note: 1-4 means sample from Fujian, 5-7 from Shandong, 8-33 from Zhejiang

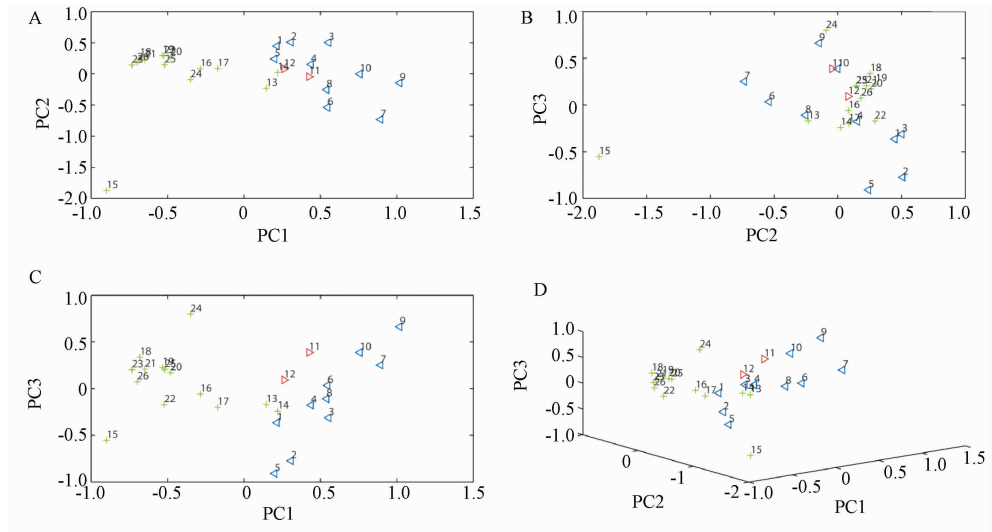


图 3 浙江金华、余姚和西湖区茶叶样本中前三个主成分的投影图

Fig. 3 PCA cross-plot of former three principal components of tea sample from Jinhua, Yuyao and Xihu region of Zhejiang

注:1-10 表示金华地区,11-12 为余姚地区,13-26 表示西湖地区

Note: 1-10 means the samples from Jinhua,11-12 from Yuyao,13-26 from Xihu

分样本,划分山东、福建、浙江三类,利用 LDA 建模,然后将山东和福建剩余的 3 个样本、浙江剩余的 8 样本用于验证模型准确性,判别函数(Y)如下:

$$Y1 = PC1 \times 0.31 + PC2 \times (-3.52) + PC3 \times 5.19 + PC4 \times 2.25 + PC5 \times (-0.55) + PC6 \times 2.97 + PC7 \times (-0.78) + PC8 \times 5.61 + PC9 \times (-0.75) + (-2.31)$$

$$Y2 = PC1 \times 11.22 + PC2 \times 20.73 + PC3 \times 23.90 + PC4 \times (-3.34) + PC5 \times 5.88 + PC6 \times 14.93 + PC7 \times (-7.70) + PC8 \times (-23.08) + PC9 \times 3.52 + 19.82$$

浙江地区的样本进一步划分为余姚、金华与西湖三类,采用 LDA 建模,然后将余姚和金华剩余的 3 个样本、西湖剩余的 5 个样本进行验证,判别函数(Y)如下:

$$Y1 = PC1 \times (-0.91) + PC2 \times (-0.06) + PC3 \times 0.23 + PC4 \times 0.18 + PC5 \times 0.01 + PC6 \times (-0.58) + PC7 \times 0.24 + PC8 \times 0.24 + PC9 \times (-0.50) + (-0.05)$$

$$Y2 = PC1 \times 0.10 + PC2 \times (-4.82) + PC3 \times 2.09$$

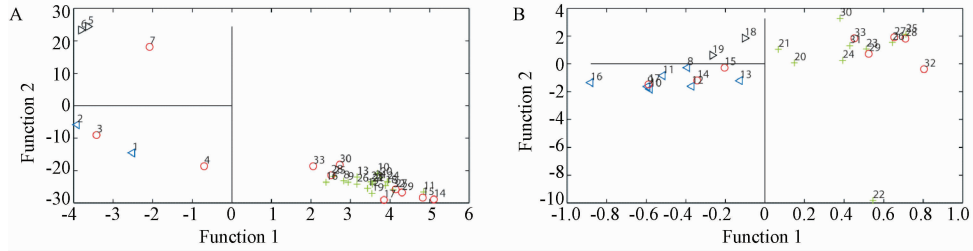


图4 (A)采用PCA-LDA判定函数区分山东、福建和浙江产地茶叶的散点图。

(B)采用PCA-LDA判定函数区分浙江金华、余姚和西湖产地茶叶的散点图

Fig. 4 (A) Scatter plot of the first PCA-LDA discriminant functions showing separation tea samples between Shandong, Fujian and Zhejiang origins. (B) Scatter plot of the first PCA-LDA discriminant functions showing separation tea samples between Jinhua, Yuyao and Xihu region of Zhejiang.

注:带“○”为验证样本

Note: a symbol with “○” represents validating sample

+ PC4 × 1.17 + PC5 × 1.17 + PC6 × 0.54 + PC7 × (-9.49) + PC8 × (-1.66) + PC9 × 3.45 + 1.80

从图4看出,无论是大区域(山东、福建和浙江)还是小区域(浙江金华、余姚和西湖),各地样本都得到了很好的区分。图4(A)中,浙江产茶叶分布明显聚集一簇,与福建和山东产的茶叶分开,而且福建和山东产的茶叶也得到很好的区分。在2000次的重复中,判别结果的准确率高达99%。这说明采用PCA-LDA能够将不同省份产的茶叶有效区分和判别。

图4(B)中,与大区域相比,金华、余姚和西湖产茶叶没有区分得那么明显,且金华和余姚产的茶叶存在部分重叠,但西湖产的茶叶能与金华和余姚产的有明显区分,实现了我们当初试图将浙江西湖产区与其他产区的茶叶分开的设想。同样在2000次的重复模拟,验证样本的判别准确率达到86%。本试验金华、余姚和西湖地理位置和气候特点等相近,属于小范围区域的判别,准确率相对较低,这需要进一步加大样本数量和改进判别方法来提高准确率。

### 3 讨论

#### 3.1 茶叶中同位素比率和矿物多元素的含量不同,具有一定的地域特征

不同产地茶叶中 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 的变化范围较小,地域特征不明显,而 $\delta\text{D}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 的变化范围较大,有一定的差异性和地域特征。茶叶中 $\delta^{13}\text{C}$ 的范围具有C3植物典型特征<sup>[19]</sup>,同时受产地经纬度、海拔高度和气温等因素影响。如福建的平均气温较山东、浙江的高,而其茶叶中 $\delta^{13}\text{C}$ 也较低。茶叶中氮主要来自土壤中的氮池(硝酸盐和氨水),同时与外界施肥种类有关(化肥

或有机肥),如中野明正等<sup>[20]</sup>研究认为,判定茶叶使用过化肥的 $\delta^{15}\text{N}$ 阈值应在5‰左右,当然长期使用有机肥的茶叶中 $\delta^{15}\text{N}$ 值高达7.7‰,而冯海强等<sup>[21]</sup>认为如茶叶中 $\delta^{15}\text{N}$ 在7‰以下,则大多使用化肥氮肥。本试验结果表明,各地茶叶中使用有机肥的可能较小。植物中 $\delta\text{D}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$ 与其产地纬度有关,纬度较高其数值较低<sup>[22]</sup>。如山东茶叶的数值与福建和浙江相比较低,这可能也与其纬度较高有关。不同产地茶叶中矿物元素含量也有所不同,也具有一定的地域特征。魏益民等<sup>[23]</sup>研究认为利用不同产地茶叶铅同位素比率的差异性,可以进行茶叶产地溯源。锶同位素 $^{87}\text{Sr}$ 主要由 $^{87}\text{Rb}$ 通过 $\beta$ 衰变得来,具有很好的地理指示作用<sup>[24]</sup>。本研究表明,山东茶叶中 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 比值低于福建和浙江的,具有一定地域特征。王文伟等<sup>[25]</sup>采用ICP-MS对福建省9个茶叶品种中14种元素进行测定分析,认为福建产茶叶中富含Mn、Fe、Zn和Cu四种元素,这与本试验的结果有所不同。而任宏波等<sup>[26]</sup>报道嵊山茶中Mn、K、Mg和Fe含量分别为 $1107\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、2.1%、0.22%和0.044%的结果与本试验基本一致。Moreda-Piñeiro等<sup>[27]</sup>利用ICP-AES/ICP-MS测定中国茶样中17种元素的含量与本试验的结果也存在一定差异,但各元素含量平均值都在其范围之内,特别是Zn、Ca、Mg、Mn等常量元素。另外,茶叶中微量元素含量与茶叶产地和品种也有很大的相关<sup>[28,29]</sup>。

#### 3.2 茶叶产地溯源受判别方法的影响,不同产地范围影响判别准确率

通常LDA抓住了样本的判别特征,而PCA抓住了样本的描述特征<sup>[30]</sup>。本研究表明,PCA能在一定程度上区分福建、浙江和山东产地的茶叶,但存在很大程度的重合,特别是在数据量偏低、地理位置差异小的情况

况下,如区分浙江省不同产地的茶叶更有难度。而采用 LDA-PCA 处理后,不但福建、浙江和山东的大区域可以区分,浙江省内的小区域产地也可以得到良好区分,大区域和小区域的模拟验证准确率分别高达 99% 和 86%。Moreda-Piñeiro 等<sup>[27]</sup>采用 LDA 法将中国与印度和斯里兰卡的茶叶区分开,属于更大范围的产地判别,准确率较高。采用不同的判别方法会造成不同的判别准确率,如 Moreda-Piñeiro 等采用 LDA 法判别非洲茶和亚洲茶的准确率分别为 100% 和 97.2%,而采用 SIMCA 的准确率则分别为 83.3% 和 88.9%<sup>[27]</sup>。因此,需要增加数据信息量,采用不同判定方法验证模型的准确性。

### 3.3 LDA-PCA 判别具有一定的优势,受茶叶类型等因素影响小

通过验证,福建和山东与浙江产地的判别准确率达到 99%,而浙江余姚和金华与西湖产区的判别准确率达到 86%。可见,采用 PCA-LDA 可以在一定程度上克服样本数目少于量测变量的不足。与饶秀勤等基于 X 射线荧光技术进行茶叶产地鉴别误差率为 42% 相比<sup>[31]</sup>,其准确性有了很大提高。Pilgrim 等研究认为,利用同位素和多元素检测技术来判定茶叶原产地,不受茶叶类型(红茶、绿茶和乌龙茶)、品质和采收年份的影响<sup>[16]</sup>。而化学指纹图谱扫描或近红外光谱扫描法则容易受到茶叶加工因素、茶叶类别甚至样品制备等因素影响。成浩等研究也认为,如果结合香气成分、矿物元素及同位素组成等特征指标,将提高多元 HPLC 化学指纹图谱判别结果的准确度<sup>[9]</sup>。因此,通过稳定同位素和矿物多元素检测,结合 PCA-LDA 法构建的模型比较稳健,适用于监管部门和企业进行产地溯源和品牌保护。

## 4 结论

福建、山东和浙江产茶叶中同位素比率和矿物多元素的含量有所不同,个别元素的含量也存在明显差异,具有一定的地域特征,但不能据此将各地茶叶进行有效区分。而结合 PCA 和 LDA 进行判别,则能一定程度上区分各产地的茶叶。结果表明,PCA 虽较好的将福建、山东和浙江,以及浙江金华、余姚和西湖产区的茶叶分开,但存在很大程度的重叠;而利用 PCA-LDA 法,各地茶叶得到有效区分和判别验证。

总之,同位素比率和多元素含量检测并结合 PCA-LDA 法,能够有效地区分福建、山东和浙江产的茶叶,以及浙江余姚、金华和西湖地区产的龙井茶,尽管存在

小区域范围内判别样本重合的现象,但属于茶叶产地溯源和判别方法的新尝试。一个有效的判定方法,需要大量的数据支持,并具有稳定的准确率。因此,将在今后研究中通过增加样本数量、改进判别分析方法以及研究产地环境与茶叶间同位素组成关系等来提高该方法的稳定性和准确性,这对我国地理标志产品茶叶的品牌保护、产地溯源和产业发展具有重要意义和应用价值。

### 参考文献:

- [1] 桂建高. 对中国原产地名称保护的建议[J]. 中国标准化, 2004, 4:61-63
- [2] 李鹏,朱超,谢丽娜,姜含春. 我国茶叶原产地域产品保护及其思路[J]. 中国茶叶加工, 2006, (1):11-13
- [3] 陆德彪,毛祖法. 基于地理标志(GI)的龙井茶产业实证分析[J]. 浙江农业学报, 2011, 23(1):41-45
- [4] Zhou J, Cheng H, He W, et al. Identification of geographical indication tea with Fisher's discriminant classification and principal components analysis[J]. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 2009, 17(3):159-164
- [5] 周健,成浩,贺巍,王丽鸳,吴迪. 基于近红外的 PLS 量化模型鉴定西湖龙井真伪的研究[J]. 2009, 29(5):1251-1254
- [6] 周健,成浩,曾建明,王丽鸳,韦康,贺巍,王伟峰,刘栩. 基于近红外的多相偏最小二乘模型组合分析实现茶叶原料品种鉴定与溯源的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(10):2650-2653
- [7] 王丽鸳,成浩,周健,叶阳,刘栩,陆文渊. 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
- [8] 王丽鸳,成浩,周健,何孝廷,薛凤仁,徐锦斌,贺巍. 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
- [9] 成浩,王丽鸳,周健,刘栩,叶阳,陆文渊. 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
- [10] 成浩,王丽鸳,周健,叶阳,刘栩,陆文渊. 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
- [11] Gérard G, Sylvie Q, Umberto P, et al. Characterization of Swiss vineyards using isotopic data in combination with trace elements and classical parameters[J]. European Food Research and Technology, 2004, 219(1):97-104
- [12] Suzuki Y, Chikaraishi Y, Ogawa N O, et al. Geographical origin of polished rice based on multiple element and stable isotope analyses[J]. Food Chemistry, 2008, 109(2):470-475
- [13] Camin F, Perini M, Bontempo L, et al. Multi-element (H, C, N, O) stable isotope characterization of blueberries [J]. ISHS Acta Horticulturae 810: IX International Vaccinium Symposium, 2009, 697-704



- [14] Marcos A, Fisher A, Rea G, et al. Preliminary study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea [J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1998, 13(6): 521-525
- [15] Moreda-Pineiro A, Marcos A, Fisher A, et al. Evaluation of the effect of data pre-treatment procedures on classical pattern recognition and principal components analysis: a case study for the geographical classification of tea [J]. *J Environ Monit*, 2001, 3: 352-360
- [16] Pilgrim T S, Watling R, Grice K. Application of trace element and stable isotope signatures to determine the provenance of tea (*Camellia Sinensis*) samples [J]. *Food Chemistry*, 2010, 118(4): 921-926
- [17] 张新新,李雨,纪玉佳,王鹏,张永清,薛付忠. 主成分-线性判别分析在中药药性识别中的应用[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2012, 50(1): 143-146
- [18] Kawasaki A, Oda H, Hirata T. Determination of strontium isotope ratio of brown rice for estimating its provenance [J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2002, 48: 635-640
- [19] 郭波莉,魏益民,潘家荣. 同位素指纹分析技术在食品产地溯源中的应用进展[J]. *农业工程学报*, 2007, 23(3): 284-289
- [20] 中野明正,畑中義生,上原洋一,等. 窒素安定同位体比を用いた有機茶の判別およびアミノ酸,纖維含量と荒茶価格との関係[J]. *農業および園芸*, 2005, 80(3): 363-367
- [21] 冯海强,潘志强,于翠平,王校常. 利用<sup>15</sup>N自然丰度法鉴别有机茶的可行性分析[J]. *核农学报*, 2011, 25(2): 308-312
- [22] 钟其顶,王道兵,熊正河. 稳定氢氧同位素鉴别非还原(NFC)橙汁真实性应用初探[J]. *饮料工业*, 2011, 14(12): 6-9
- [23] 魏益民,李勇,郭波莉. 植物性食品污染源溯源技术研究[M]. 科学出版社, 2010, 北京: P51
- [24] 周强强,胡文洁. Sr同位素的研究现状和最新进展[J]. *科技信息*, 2012, 1: 396-423
- [25] 王文伟,骆和东,周娜,白艳艳. 福建省地产茶叶中14种元素的分析与研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2011, 23(3): 265-269
- [26] 任宏波,万中杰,许静,汪东风,刘昌岭,匡新. 崂山茶产区土壤中有效态矿质元素对茶叶中矿质元素及其品质的影响[J]. *蚕桑茶叶通讯*, 2008, 134(2): 28-30
- [27] Moreda-Piñeiro A, Fisher A, Hill S J. The classification of tea according to region of origin using pattern recognition techniques and trace metal data [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2003, 16(2): 195-211
- [28] 戴寰,王瑞雪,田笠卿. 茶叶中的微量元素[J]. *茶叶通报*, 1986, 6: 1-4
- [29] 薛小珍. 江苏浙江两省茶叶中微量元素分析[J]. *苏州医学院学报*, 1999, 19(12): 1363-1364
- [30] 王晓慧. 线性判别分析与主成分分析及其相关研究评述[J]. *中山大学研究生学刊:自然科学、医学版*, 2007, 28(4): 50-61
- [31] 饶秀勤,应义斌,黄海波,史舟,周炼清. 基于X射线荧光技术的茶叶产地鉴别方法研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2009, 29(3): 837-839