

HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别法评价不同产地抹茶质量

冉清连, 伍 庆*

贵州师范大学 山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室, 贵州 贵阳 550001

摘要: **目的** 建立不同产地抹茶的 HPLC 指纹图谱及多成分含量测定, 结合化学模式识别法评价不同产地抹茶的质量, 为其进一步研究和开发提供依据。 **方法** Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱, 流动相为乙腈 (A) -0.1% 磷酸 (B) 进行梯度洗脱, 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长 278 nm, 柱温 35 °C, 进样量 10 µL。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版》(国家药典委员会 2004 版) 软件建立 27 批不同产地抹茶的 HPLC 指纹图谱并分析相似度。使用 IBM SPSS statistics 20 和 Origin 2023b 软件进行聚类分析、主成分分析和偏最小二乘法-判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)。通过对照品对比指认化学成分并进行定量测定。 **结果** 27 批抹茶 HPLC 指纹图谱共匹配出 23 个共有峰, 分别指认出, 峰 4 是没食子酸, 峰 6 是表没食子儿茶素 (epigallocatechin, EGC), 峰 8 是儿茶素, 峰 9 是咖啡碱, 峰 12 是表儿茶素, 峰 13 是表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin-3-gallate, EGCG), 峰 14 是没食子儿茶素没食子酸酯 (gallocatechin gallate, GCG), 峰 16 是芦丁, 峰 17 是表儿茶素没食子酸酯 (epicatechin gallate, ECG), 峰 21 是槲皮素, 峰 22 是山柰酚, 指纹图谱相似度范围为 0.983~1.000。聚类分析将 27 批抹茶分为 4 类。主成分分析得出江口和瓮安产地的抹茶质量较好; 经 PLS-DA 分析筛选出了咖啡碱、EGCG、儿茶素、山柰酚、GCG、没食子酸等 8 个差异成分。样品中没食子酸、EGC、儿茶素、咖啡碱、表儿茶素、EGCG、GCG、芦丁、ECG、槲皮素、山柰酚 11 种成分含量分别为 0.10~0.85、8.27~4.36、4.21~3.84、42.23~72.37、10.41~16.49、48.52~72.89、0.12~0.73、0.53~1.76、21.43~28.60、0.01~0.04、0.03~0.38 mg/g。 **结论** 建立的抹茶 HPLC 指纹图谱操作简便、结果可靠, 咖啡碱、EGCG、儿茶素、山柰酚、GCG、没食子酸可以作为抹茶质量评价的指标性成分。

关键词: 抹茶; 指纹图谱; 咖啡碱; 表没食子儿茶素没食子酸酯; 儿茶素; 山柰酚; 没食子儿茶素没食子酸酯; 没食子酸; 儿茶素类物质; 化学识别模式; 主成分分析

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)05-1699-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.05.027

Quality evaluation of matcha from different producing areas by HPLC fingerprint, multi-component quantitative and chemical pattern recognition

RAN Qinglian, WU Qing

Key Laboratory of Mountain Environmental Information System and Ecological Environmental Protection, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China

Abstract: Objective To establish HPLC fingerprint and multi-component content determination of Matcha from different producing areas, and evaluate the quality of Matcha from different producing areas combined with chemical pattern recognition method, so as to provide basis for its further research and development. **Methods** The HPLC analysis was performed on Agilent Eclipse Plus C₁₈ chromatographic column, mobile phase was acetonitrile (A)-0.1% phosphoric acid (B) for gradient elution, the volume flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 278 nm, the column temperature was 35 °C, and the injection volume was 10 µL. HPLC fingerprints of 27 batches of Matcha from different places were established by using the software of similarity evaluation system of chromatographic fingerprints of traditional Chinese medicine (version A) (National Pharmacopoeia Committee 2004) and the similarity was analyzed. Cluster analysis, principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) were carried out by using IBM SPSS statistics 20 and Origin 2023b software. The chemical components were identified and quantitatively determined by comparing with the reference substances. **Results** The HPLC fingerprints of 27 batches of Matcha matched 23 common peaks, which were identified respectively. Peak 4 was gallic acid, peak 6 was epigallocatechin (EGC), peak 8 was catechin, peak 9 was caffeine, peak 12 was epicatechin, peak 13 was epigallocatechin-

收稿日期: 2023-10-02

基金项目: 国家新药创制重大专项—中药经典名方开发子课题 (2015ZX09101043-007); 国家中药标准化项目 (ZYBZH-C-GZ-10); 贵州省教育厅创新群体重大研究项目 (黔教合 KY 字[2018]014)

作者简介: 冉清连 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为分析化学。Tel: 18798120539 E-mail: 3150502336@qq.com

*通信作者: 伍 庆 (1970—), 男, 侗族, 教授, 研究方向为分析化学。Tel: 13984029735 E-mail: wq0851@126.com

3-gallate (EGCG), peak 14 was gallocatechin gallate (GCG), peak 16 was rutin, peak 17 was epicatechin gallate (ECG), peak 21 was quercetin and peak 22 was kaempferol. The similarity of fingerprints ranged from 0.983 to 1.000. Twenty-seven batches of Matcha were divided into four categories by cluster analysis. PCA showed that the quality of Matcha produced in Jiangkou and Weng'an was better. Eight differential components, such as caffeine, EGCG, catechin, kaempferol, GCG and gallic acid, were screened by PLS-DA analysis. The contents of eleven components of gallic acid, EGC, catechin, caffeine, epicatechin, EGCG, GCG, rutin, ECG, quercetin and kaempferol in the sample were 0.10—0.85, 8.27—4.36, 4.21—3.84, 42.23—72.37, 10.41—10.41, 48.52—72.89, 0.12—0.73, 0.53—1.76, 21.43—28.60, 0.01—0.04, 0.03—0.38 mg/g, respectively. **Conclusion** The established HPLC fingerprint of Matcha is simple and reliable. Caffeine, EGCG, catechin, kaempferol, GCG and gallic acid can be used as index components for quality evaluation of Matcha.

Key words: Matcha; fingerprint; caffeine; epigallocatechin-3-gallate; catechin; kaempferol; gallocatechin gallate; gallic acid; catechins; chemical identification mode; principal component analysis

抹茶 (matcha) 起源于魏晋时期, 以采用覆盖栽培的茶树鲜叶经蒸汽 (或热风) 杀青后、干燥制成的叶片为原料, 经碾磨工艺加工而成的微粉状茶 *Camellia sinensis* L. 产品^[1]。作为药用材料, 在《神农本草经》中曾指出: “神农尝百草, 日遇七十二毒, 得茶而解之”。在《中国药典》2015 年版第一部中药相关中记载茶提取物可入药, 具有清利头目、醒神健脑、化浊降脂作用, 可用于胸闷气短、倦怠乏力、精神不振、动脉粥样硬化、肿瘤放疗、化疗所致的白细胞减少等病症。现有病理学研究和临床试验表明, 茶多酚是抹茶的主要生物活性成分, 对各种癌症具有保护作用^[2-4]。抹茶中生物活性成分和多酚的含量是传统绿茶的 10 倍^[5]被认为是质量最高的茶叶类型^[6-7]。其中儿茶素类的含量越高, 抗氧化活性就越高^[8-9], 并且抗炎和抗氧化以及化学预防活性是儿茶素类最重要的作用^[10-14]。抹茶的化学成分包括十多种化合物。其主要成分为酚酸、多酚类化合物 (包括儿茶素), 以及氨基酸、蛋白质和脂肪酸^[15-20]。这些主要成分对改善血液循环、心血管疾病^[21]、缓解压力^[22-24]、抗炎抗菌、降胆固醇^[25]、调血脂、降血糖^[26-27]等起到了很大的作用。课题组前期对抹茶的主要分布地区进行了分析与调研, 发现贵州的抹茶很受欢迎且有辨识度^[29-36], 因此收集了贵州 5 个不同产地不同生长期的 27 批抹茶样品信息。本研究采用 HPLC 法建立不同产地不同生长期抹茶的指纹图谱, 并测定其中 11 个主要共有成分的含量, 并结合化学模式识别法对抹茶的质量进行综合评价, 为其质量控制及进一步研究开发提供理论依据, 同时为贵州抹茶产业发展提供决策依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

没食子酸 (批号 wkq9010307)、表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin-3-gallate, EGCG, 批号

wkq19041202)、咖啡碱 (批号 wkq19040910)、没食子儿茶素没食子酸酯 (gallocatechin gallate, GCG, 批号 wkq9042610)、山柰酚 (批号 wkq9011609)、槲皮素 (批号 wkq19011509) 对照品购于四川维克奇生物科技有限公司, 儿茶素 (批号 110877-202005)、表儿茶素 (批号 110878-21703) 对照品购于中国食品药品鉴定研究院, 表儿茶素没食子酸酯 (epicatechin gallate, ECG, 批号 K07J12R136470)、表没食子儿茶素 (epigallocatechin, EGC, 批号 K22N9R75650) 购于上海源叶生物科技有限公司, 芦丁 (批号 IV1531841) 购于国药集团化学试剂有限公司。无水乙醇 (分析纯, 天津科密欧化学试剂有限公司), 甲醇、乙腈 (色谱纯, 天津科密欧化学试剂有限公司), 超纯水 (自制), 其余试剂均为分析纯。样品由贵茶集团有限公司提供, 经贵州中医药大学药学院魏升华教授鉴定为茶 *C. sinensis* L. 的加工品抹茶。具体来源见表 1。

1.2 仪器

Agilent 1100、Agilent 1260 系列高效液相色谱仪 (包括在线脱气机、四元泵、自动进样器、DAD

表 1 不同时间不同产地抹茶样品信息

Table 1 Information of Matcha samples from different places at different times

样品编号	采集时间	产地	样品编号	采集时间	产地
S1	2018-08-22	贵州凤岗	S15	2019-05-16	贵州久安
S2	2019-07-18	贵州江口	S16	2018-05-16	贵州久安
S3	2018-05-14	贵州思南	S17	2019-05-16	贵州江口
S4	2019-05-21	贵州凤岗	S18	2019-06-04	贵州思南
S5	2019-07-02	贵州瓮安	S19	2019-06-28	贵州思南
S6	2018-08-10	贵州瓮安	S20	2019-07-12	贵州久安
S7	2018-05-23	贵州思南	S21	2019-06-11	贵州瓮安
S8	2019-06-28	贵州瓮安	S22	2018-09-12	贵州瓮安
S9	2018-05-14	贵州凤岗	S23	2018-07-12	贵州久安
S10	2018-08-22	贵州凤岗	S24	2019-05-21	贵州江口
S11	2019-06-04	贵州江口	S25	2022-10-13	贵州江口
S12	2019-05-17	贵州瓮安	S26	2022-10-13	贵州江口
S13	2019-06-04	贵州凤岗	S27	2021-10-13	贵州思南
S14	2019-05-23	贵州久安			

检测器,美国),Agilent 色谱工作站(美国安捷伦科技有限公司),AL-204 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多),移液管(0.1、0.5 mL),CH-250 型超声波清洗机(北京创新德超声电子研究所);Discovery DV215CD 型分析天平(上海奥豪斯仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液的配制 取没食子酸、EGC、儿茶素、咖啡碱、表儿茶素、EGCG、GCG、芦丁、ECG、槲皮素、山柰酚适量,精密称定,加甲醇溶解得质量浓度为 0.14、1.92、0.83、2.01、1.04、2.14、1.15、1.062、2.18、1.102、1.096 mg/mL 的对照品储备液,精密取上述对照品储备液适量用甲醇稀释,分别得到 0.003 0、0.774 0、0.058 3、0.850 7、0.105 6、2.201 9、0.019 1、0.051 1、6.911 0、0.000 9、0.000 5 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取各抹茶样品粉末约 0.5 g,精密称定与 100 mL 锥形瓶中,加入 25 mL 70%甲醇溶液,超声 0.5 h,补足减失质量,离心,取上层清液,过 0.45 μ m 有机相微孔滤膜,取续滤液作为供试品待上机。

2.2 色谱条件

Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m),流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~13 min, 6%~12% B; 13~23 min, 12%~17.5% B; 23~31 min, 17.5% B; 31~36 min, 17.5%~21.5% B; 36~44 min, 21.5%~25.5% B; 44~55 min, 25.5%~64% B; 55~60 min, 64%~70% B);体积流量 1 mL/min;检测波长 278 nm;柱温 35 $^{\circ}$ C;进样量 10 μ L。

2.3 指纹图谱方法学考察

为了更加全面、准确地评价指纹图谱方法在不同产地抹茶提取物中的应用,不仅计算样品中 23 个共有峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 进行评价,还通过中药色谱指纹图谱^[37]相似度评价系统 2004A 版软件,进行相似度计算,评价指纹图谱方法学中精密度、稳定性和重复性试验。

2.3.1 精密度试验 取 S25 号的样品按照“2.1.2”项下制备不同产地抹茶提取物的供试品溶液,并按照“2.2”项下的色谱条件,连续进样 6 次,记录抹茶提取物供试品中 23 个共有峰各色谱峰的保留时间和峰面积。并对 6 次的峰面积和保留时间进行 RSD 计算,23 个共有峰(F1~F23)的峰面积和保

留时间及相对峰面积, RSD 均小于 5%。

2.3.2 稳定性试验 取 S25 号的样品按照“2.1.2”项下制备不同产地抹茶提取物的供试品溶液,按照“2.2”项下的色谱条件,分别在 0、2、4、8、12、24 h 进行进样,记录抹茶提取物供试品中 23 个共有峰各色谱峰的保留时间和峰面积,共有峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 均小于 5%。

2.3.3 重复性试验 取 S25 号样品按照“2.1.2”项下制备不同产地抹茶提取物供试品溶液平行制备 6 份,按照“2.2”项下的色谱条件,进样测定,记录抹茶提取物供试品中 23 个共有峰各色谱峰的保留时间和峰面积。计算 23 个共有峰的相对保留时间、相对峰面积,共有峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 均小于 5%。结果表明,该方法重复性良好。

2.4 指纹图谱的建立和相似度分析

2.4.1 指纹图谱的建立及共有峰的指认 27 批不同产地抹茶样品按“2.1.2”项下方法制备成供试品溶液,按照“2.2”项下色谱条件进行分析,记录色谱图。将得到的 27 批不同产地抹茶指纹图谱以 AIA 格式导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2004 版 A),以 S25 样品为参照指纹图谱,时间窗宽度设置为 0.1 min,采用多点校正法自动匹配分析法建立指纹图谱,平均数生成对照指纹图谱,通过与对照品溶液图谱比对,对共有峰进行指认。结果显示,27 批抹茶的色谱图中共匹配出 23 个共有峰。通过混合对照品溶液图谱比对,指认出其中 11 个共有峰,依次为没食子酸(4 号峰)、EGC(6 号峰)、儿茶素(8 号峰)、咖啡碱(9 号峰)、表儿茶素(12 号峰)、EGCG(13 号峰)、GCG(14 号峰)、芦丁(16 号峰)、ECG(17 号峰)、槲皮素(21 号峰)、山柰酚(22 号峰)。27 批不同产地的抹茶 HPLC 叠加指纹图谱和对照指纹图谱(R)见图 1,混合对照品溶液、空白、样品的 HPLC 图见图 2,共有模式指纹图见图 3。

2.4.2 相似度分析 以生成的对照指纹图谱为标准,计算 27 批不同产地抹茶提取物的相似度^[38],分析结果见表 2,样品相似度为 0.983~1.000,表明不同产地的抹茶之间成分组成差异小,指纹图谱相对稳定,可以用于综合评价抹茶的整体质量。

2.5 化学模式识别

2.5.1 聚类分析 以 27 批样品中 23 个共有峰峰面积为变量,导入 SPSS 软件,采用组间连接、平方欧氏距离法进行系统聚类分析^[39-40],结果如图 4 所

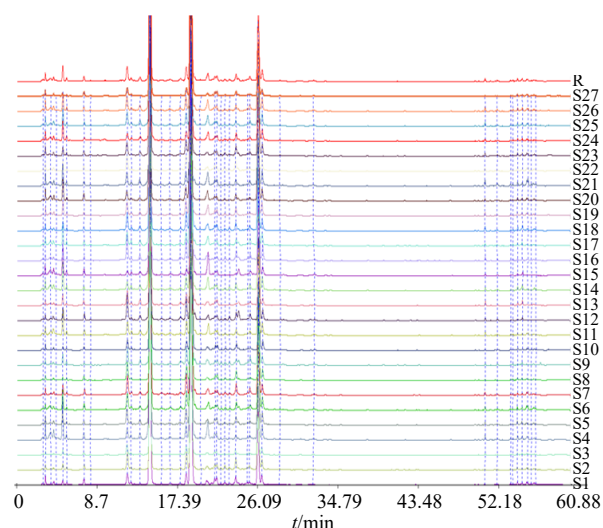
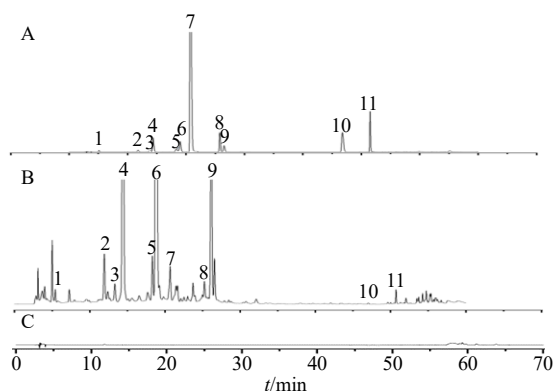
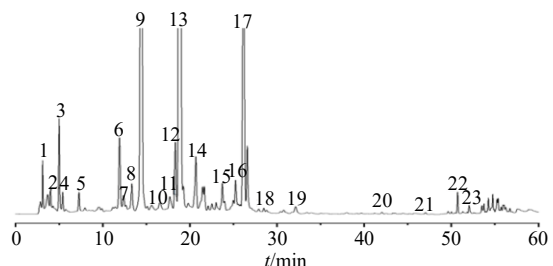


图 1 抹茶提取物 HPLC 指纹图谱
Fig. 1 HPLC fingerprint of Matcha extract



1-没食子酸, 2-EGC, 3-儿茶素, 4-咖啡碱, 5-表儿茶素, 6-EGCG, 7-GCG, 8-芦丁, 9-ECG, 10-槲皮素, 11-山柰酚。
1-gallic acid, 2-EGC, 3-catechin, 4-caffeine, 5-epicatechin, 6-EGCG, 7-GCG, 8-rutin, 9-ECG, 10-quercetin, 11-kaempferol.

图 2 混合对照品 (A)、样品 (B) 和溶剂空白 (C) 图
Fig. 2 Diagram of mixed reference substance (A), sample (B) and solvent blank (C)



4-没食子酸, 6-EGC, 8-儿茶素, 9-咖啡碱, 12-表儿茶素, 13-EGCG, 14-GCG, 16-芦丁, 17-ECG, 21-槲皮素, 22-山柰酚。
4-gallic acid, 6-EGC, 8-catechin, 9-caffeine, 12-epicatechin, 13-EGCG, 14-GCG, 16-rutin, 17-ECG, 21-quercetin, 22-kaempferol.

图 3 抹茶水提取物共有模式指纹图谱
Fig. 3 Common pattern fingerprint of Matcha water extract

表 2 抹茶提取物 HPLC 指纹图谱相似度分析结果
Table 2 Similarity analysis results of HPLC fingerprint of Matcha extract

编号	相似度值	编号	相似度值
S1	0.995	S15	0.995
S2	0.999	S16	0.994
S3	0.999	S17	1.000
S4	0.999	S18	0.994
S5	1.000	S19	0.998
S6	0.998	S20	0.998
S7	0.998	S21	0.999
S8	0.998	S22	1.000
S9	0.997	S23	1.000
S10	0.995	S24	0.997
S11	1.000	S25	1.000
S12	0.996	S26	1.000
S13	0.998	S27	0.983
S14	0.999		

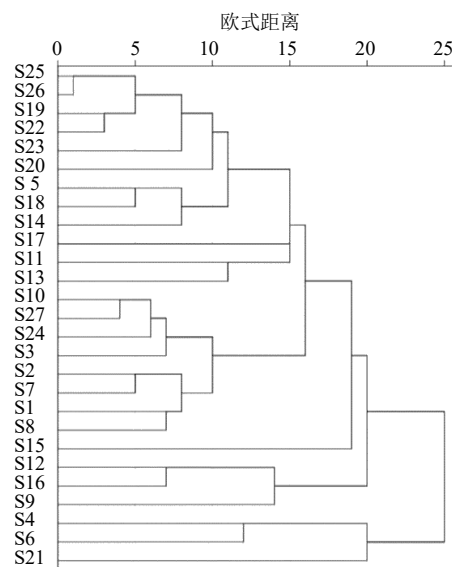


图 4 27 批抹茶样品聚类分析图
Fig. 4 Cluster analysis diagram of 27 batches of Matcha samples

示, 当欧氏距离为 20 时, 抹茶样品可聚为 4 类, S1~S3、S5、S7、S8、S10、S11、S13~S15、S17~S20、S22~S27 聚为第一类, 样品来自于江口和瓮安, 两地经纬度差不多, 并且气候都属于亚热带季风性湿润气候, 表明 2 地抹茶在质量上较为相似; S9、S12、S16 聚为第 2 类, 抹茶样品都来自贵阳市久安乡, 海拔在 1 100~1 146 m, 表明同一地区抹

茶在质量上较为相似; S21 单独聚为 1 类, 为思南抹茶样品, 表明 S21 批抹茶样品与其余批次抹茶样品之间质量上存在一定的差异; S4、S6 聚为第 4 类, 这两批样品均来自于凤岗, 并且采摘时间为同一年, 表明同一时间同一地点抹茶样品质量上较为相似。

2.5.2 主成分分析 主成分分析是最常用的多指标线性降维和多变量分析方法^[41-42]。该法可将原有众多具有一定相关性的变量重新组合转换成一组新的、相互无关的变量来代替原变量, 转换后的本组变量叫主成分, 该分析方法已经广泛应用于茶叶的品质综合评价与分类。以 27 批抹茶指纹图谱中 23 个共有峰的峰面积为变量, 运用 SPSS 软件进行主成分分析, 以主成分特征值 >1 为提取标准并生成因子得分系数矩阵。结果 Bartlett 球形检定显著性 $P<0.0001$, 说明拒绝变量相互独立的假设, 即主成分分析成立, 共提取得到 7 个主成分, 其累积方差贡献率为 83.767%, 说明这 7 个主成分可解释原有变量 83.767% 的信息, 即可用 7 个主成分代替指纹图谱 23 个共有峰评价抹茶样品。特征值及贡献率见表 3。

表 3 特征值及方差贡献率

Table 3 Eigenvalue and variance contribution rate			
主成分因子	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	6.547	28.467	28.467
2	3.661	15.917	44.384
3	2.770	12.042	56.426
4	1.986	8.636	65.062
5	1.863	8.101	73.163
6	1.405	6.110	79.272
7	1.034	4.495	83.767

因子载荷矩阵反映了各主成分与 23 个共有峰即原始变量之间的相关系数, 结果见表 4, 第 1 主成分主要反映了色谱峰 1~4、6~10、12、16、19 的信息, 第 2 主成分主要反映了色谱峰 13 的信息, 第 3 主成分主要反映了色谱峰 11、14、15、17、18 的信息, 第 4 主成分主要反映了色谱峰 5 的信息, 第 5 主成分主要反映了色谱峰 20 的信息, 第 6 主成分主要反映了色谱峰 21 的信息, 第 7 主成分主要反映了色谱峰 22、23 的信息。

表 4 因子载荷矩阵

Table 4 Factor load matrix

共有峰编号	载荷						
	因子 1	因子 2	因子 3	因子 4	因子 5	因子 6	因子 7
F1	0.900	-0.299	-0.046	-0.084	-0.135	-0.011	-0.050
F2	0.788	-0.092	0.101	-0.127	0.033	0.106	-0.096
F3	0.776	-0.181	-0.280	0.195	0.030	0.249	0.317
F4	0.733	0.252	0.214	-0.399	-0.250	0.057	-0.220
F5	0.689	0.148	-0.163	0.482	-0.262	-0.200	-0.088
F6	0.672	0.154	0.300	0.257	0.066	0.187	0.040
F7	0.637	0.548	-0.155	-0.139	0.398	0.020	-0.245
F8	0.631	0.556	-0.009	0.108	0.026	-0.245	0.193
F9	0.623	0.255	-0.350	0.173	-0.264	-0.446	0.056
F10	0.588	-0.455	-0.210	0.021	-0.238	0.146	-0.297
F11	0.517	0.298	0.494	-0.404	-0.363	0.035	-0.018
F12	0.386	-0.812	-0.048	0.285	0.044	-0.028	-0.026
F13	-0.052	0.733	0.394	-0.180	0.334	0.022	-0.093
F14	0.140	-0.703	0.376	0.038	0.267	-0.229	0.045
F15	0.081	0.191	0.756	0.315	-0.055	-0.233	-0.288
F16	0.497	0.086	-0.556	0.275	0.420	0.008	-0.309
F17	0.407	-0.420	0.531	0.118	0.402	0.241	0.023
F18	0.438	-0.365	0.506	-0.182	0.344	0.052	0.126
F19	0.521	-0.118	-0.227	-0.659	-0.270	0.220	0.264
F20	0.189	0.326	-0.440	-0.148	0.647	0.214	0.159
F21	-0.217	0.067	-0.044	0.227	-0.366	0.625	-0.085
F22	0.054	-0.368	-0.155	-0.454	0.107	-0.564	0.125
F23	0.281	0.381	0.305	0.438	-0.099	0.009	0.592

运用 SPSS 软件计算 27 批抹茶样品的主成分得分, 以各主成分对应的贡献率为权重系数计算综合得分, 并进行排序, 结果见表 5。由表 5 可知, S4、S6、S21、S14、S5、S1、S17、S11、S18、S20、S7、S2 和 S25, 其综合得分均大于 1, 说明这 13 个批次抹茶样品质量较好。

表 5 27 批抹茶的主成分因子得分和排序
Table 5 Principal component factor score and ranking of 27 batches of Matcha

样品编号	得分								排序
	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	主成分 5	主成分 6	主成分 7	综合	
S1	-2.07	2.92	2.36	-0.20	0.15	-0.44	0.27	2.99	6
S2	-2.35	0.23	2.52	0.14	0.82	-0.30	0.51	1.57	12
S3	1.65	-1.43	-0.98	-1.29	-1.13	-0.87	-0.20	-4.25	23
S4	2.52	0.57	3.82	1.55	-0.15	-0.40	-0.82	7.06	1
S5	0.90	0.92	0.44	0.30	2.50	0.70	-0.86	4.88	5
S6	4.85	2.92	0.60	1.84	-1.01	-1.60	-0.95	6.68	2
S7	-0.64	-0.51	2.74	1.29	-0.52	-0.55	-0.16	1.66	11
S8	-3.27	0.48	1.20	-0.12	-0.57	1.40	-0.96	-1.83	19
S9	-0.91	-5.68	0.54	0.52	0.55	-1.79	-0.27	-7.04	25
S10	-3.42	1.24	1.03	-0.71	-0.02	-0.45	-0.29	-2.63	20
S11	0.89	0.54	-0.59	1.08	-2.57	2.45	0.61	2.42	8
S12	-4.07	1.11	-0.87	-0.90	-0.37	-0.28	1.35	-4.03	22
S13	-1.15	-0.76	-2.59	1.89	-0.25	2.36	-0.61	-1.10	17
S14	2.20	1.96	-2.52	1.17	3.07	-0.43	-0.25	5.21	4
S15	-0.85	1.50	-2.92	2.53	-1.65	-2.63	1.21	-2.81	21
S16	1.80	-3.31	0.10	1.08	-0.12	1.00	-0.54	0.01	15
S17	-0.13	-3.17	0.71	2.00	0.34	1.03	2.07	2.86	7
S18	0.54	0.45	-1.00	-0.41	3.00	0.78	-1.10	2.27	9
S19	1.41	0.50	-0.95	-0.76	0.07	0.71	-0.45	0.53	14
S20	0.76	-0.33	0.27	-1.09	0.78	0.63	1.04	2.05	10
S21	0.81	2.33	-0.24	-0.40	0.45	0.90	2.45	6.34	3
S22	-5.4	0.19	-0.52	-0.74	-1.50	0.17	-1.80	-9.56	27
S23	0.00	-1.03	0.67	-2.53	1.39	-0.83	1.34	-0.99	16
S24	-1.50	0.90	-1.27	-1.06	-0.75	-0.22	-0.81	-4.71	24
S25	5.61	0.16	0.50	-3.35	-1.92	0.55	-0.03	1.52	13
S26	2.82	-1.36	-0.67	-0.88	-0.95	-0.43	-0.24	-1.72	18
S27	-1.01	-1.31	-2.40	-0.99	0.30	-1.47	-0.51	-7.38	26

以 27 批抹茶 HPLC 指纹图谱的 23 个共有峰峰面积为变量, 导入 SIMCA-P 14.1 分析软件, 经分析生成得分矩阵图见图 5。由得分矩阵图可知, 所有数据点均在 95%置信区间内, 江口、凤岗、久安的抹茶均匀分布在横轴的负半轴, 瓮安的抹茶均匀分布在横轴的正半轴。说明同产地的抹茶重复性良好, 不同产地抹茶涩味物质存在一定区别。

2.5.3 PLS-DA 分析 为了更好地体现组间差异, 进一步做了有监督模式的 PLS-DA 识别, 并筛选出对组间差异贡献率较大的成分。将 27 批不同产地抹茶 HPLC 指纹图谱中 23 个共有峰面积为变量导

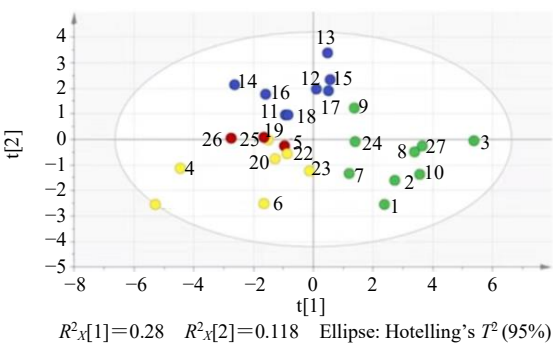


图 5 27 批抹茶的主成分得分矩阵图
Fig. 5 Principal component score matrix of 27 batches of Matcha

入 SIMCA-P 14.1 软件, 进行 PLS-DA 建模分析^[43], 通过自动拟合建立模型。变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 值是筛选差异化合物的重要指标, VIP 值越高, 对组间差异的影响越大^[44]。通过对 VIP 值进行分析, 得到差异性标记物的 VIP 得分图, 见图 6, 得分见表 6, 以 VIP 值>1 为阈值, 筛选出了 8 个变量, 按 VIP 值的大小依次排序为咖啡碱、EGCG、儿茶素、山柰酚、GCG、峰 7、峰 2、没食子酸, 这 8 个成分在不同产地的抹茶中起到了重要作用, 是其成分差异的主要标志物。

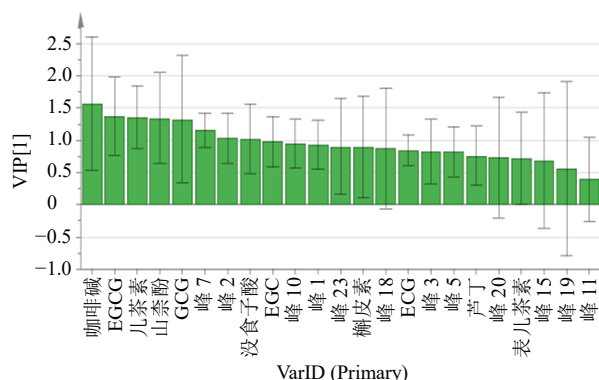


图 6 抹茶 23 个色谱峰的 VIP 得分图

Fig. 6 VIP score chart of 23 chromatographic peaks of Matcha

表 6 抹茶 23 个色谱峰的 VIP 得分

Table 6 VIP scores of 23 chromatographic peaks of Matcha

峰号	VIP 值	峰号	VIP 值
咖啡碱	1.571 580	槲皮素	0.896 388
EGCG	1.373 780	峰 18	0.873 846
儿茶素	1.358 050	ECG	0.846 615
山柰酚	1.346 880	峰 3	0.829 720
GCG	1.329 230	峰 5	0.823 644
峰 7	1.155 430	芦丁	0.760 470
峰 2	1.035 380	峰 20	0.734 560
没食子酸	1.022 460	表儿茶素	0.721 647
EGC	0.979 791	峰 15	0.686 471
峰 10	0.945 769	峰 19	0.556 155
峰 1	0.931 386	峰 11	0.394 639
峰 23	0.904 202		

2.6 抹茶中 11 个化学成分含的量测定

2.6.1 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项下没食子酸、EGC、儿茶素、咖啡碱、表儿茶素、EGCG、GCG、芦丁、ECG、槲皮素、山柰酚混合对照品 1、

3、5、10、15、20 μL , 按“2.2”项下色谱条件分析, 记录峰面积。以对照品峰面积为纵坐标 (Y), 进样量为横坐标 (X) 进行线性回归, 得到的各物质回归方程分别为 $Y_{\text{没食子酸}}=2.716X+11.91$ ($r=0.997$), $Y_{\text{EGC}}=41.799X+434.01$ ($r=0.994$), $Y_{\text{儿茶素}}=127.34X-388.13$ ($r=0.998$), $Y_{\text{咖啡碱}}=2\,502.9X-4\,622.6$ ($r=0.998$), $Y_{\text{表儿茶素}}=1\,414.1X-4\,216.4$ ($r=0.997$), $Y_{\text{EGCG}}=1\,700.1X+4\,538.2$ ($r=0.999$), $Y_{\text{GCG}}=22.936X+58.742$ ($r=0.997$), $Y_{\text{芦丁}}=1\,980.8X+10\,286$ ($r=0.998$), $Y_{\text{ECG}}=1\,667.6X-5\,590.2$ ($r=0.997$), $Y_{\text{槲皮素}}=2.673\,7X-2.661\,6$ ($r=0.999$), $Y_{\text{山柰酚}}=4.243\,8X-6.944\,4$ ($r=0.998$)。

2.6.2 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液 10 μL , 按“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次, 按峰面积计算 RSD 值。没食子酸、EGC、儿茶素、咖啡碱、表儿茶素、EGCG、GCG、芦丁、ECG、槲皮素、山柰酚的峰面积 RSD 分别为 3.06%、1.66%、2.41%、0.06%、0.60%、1.01%、1.61%、3.46%、0.28%、2.53%、1.38%。

2.6.3 重复性试验 取同一批样品 (批号 S26), 按“2.1.1”项下方法分别平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进行分析。没食子酸、EGC、儿茶素、咖啡碱、表儿茶素、EGCG、GCG、芦丁、ECG、槲皮素、山柰酚含量的 RSD 值分别为 1.62%、1.70%、2.35%、1.12%、3.63%、3.92%、2.16%、3.21%、2.50%、1.54%、3.15%。

2.6.4 稳定性试验 取“2.1.1”项下制备的供试品溶液 (S26), 按“2.2”项下的色谱条件分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录色谱峰峰面积, 没食子酸、EGC、儿茶素、咖啡碱、表儿茶素、EGCG、GCG、芦丁、ECG、槲皮素、山柰酚峰面积的 RSD 分别为 1.50%、1.12%、1.66%、0.06%、0.99%、0.85%、0.26%、3.87%、1.55%、3.19%、3.20%。

2.6.5 加样回收率试验 取已测定的样品 (批号 S26) 适量, 研细, 取 0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入一定量的没食子酸、EGC、儿茶素、咖啡碱、表儿茶素、EGCG、GCG、芦丁、ECG、槲皮素、山柰酚混合对照品储备液, 照“2.1.2”项下方法制得加样供试品溶液, 在“2.2”项下色谱条件进行测定, 测定各成分的含量, 计算各成分的加样回收率和 RSD 值, 结果没食子酸、EGC、儿茶素、芦丁、EGCG、ECG、GCG、表儿茶素、咖啡碱、槲皮素、山柰酚的平均回收率分别为

99.43%、97.49%、96.91%、99.82%、96.69%、98.16%、97.62%、96.82%、97.85%、95.81%、97.75%，RSD 值均小于 5%。

“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项下色谱条件进行进样分析，测定 11 个成分的峰面积，带入直线回归方程，计算各成分在样品中质量分数，结果见表 7。

2.6.6 样品含量测定 27 批抹茶样品粉末按照

表 7 27 批抹茶样品中 11 种成分含量检测结果
Table 7 Detection results of 11 components in 27 batches of Matcha samples

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)										
	没食子酸	EGC	儿茶素	芦丁	EGCG	ECG	GCG	表儿茶素	咖啡碱	槲皮素	山柰酚
S1	0.12	17.41	8.92	1.64	62.11	26.81	0.73	13.76	68.73	0.01	0.04
S2	0.56	16.22	7.14	1.05	49.82	26.02	0.41	14.04	42.89	0.01	0.05
S3	0.14	13.24	13.84	0.76	55.64	24.81	0.53	13.53	63.25	0.02	0.03
S4	0.85	23.91	8.92	1.05	48.58	22.23	0.91	11.97	46.63	0.02	0.07
S5	0.15	19.11	8.33	0.71	63.44	23.11	0.50	15.03	66.14	0.01	0.05
S6	0.81	21.38	6.91	1.51	60.51	25.95	0.25	12.54	62.39	0.01	0.12
S7	0.85	12.53	12.55	0.63	61.82	25.94	0.12	11.27	42.33	0.02	0.14
S8	0.12	17.21	8.64	1.05	62.15	28.60	0.37	13.76	68.73	0.06	0.04
S9	0.56	13.32	7.15	0.76	49.86	26.32	0.14	14.25	42.87	0.02	0.05
S10	0.14	12.91	10.83	1.51	55.62	24.81	0.35	13.53	63.25	0.01	0.05
S11	0.85	23.24	8.31	1.17	48.52	22.06	0.19	10.91	46.67	0.02	0.38
S12	0.15	19.12	8.03	1.51	63.43	23.33	0.55	15.03	66.15	0.01	0.05
S13	0.81	21.41	6.19	0.59	60.51	25.99	0.24	12.56	62.93	0.03	0.04
S14	0.85	24.36	5.22	1.63	61.82	25.96	0.27	12.71	42.23	0.05	0.03
S15	0.12	17.34	9.82	0.69	62.13	26.84	0.37	10.67	68.77	0.01	0.12
S16	0.18	9.22	9.45	1.56	56.88	23.45	0.67	13.76	50.34	0.02	0.24
S17	0.10	20.00	8.73	1.49	72.89	22.92	0.31	13.14	72.37	0.04	0.04
S18	0.15	17.14	7.18	0.84	64.36	22.71	0.52	15.27	61.87	0.02	0.04
S19	0.09	20.85	6.67	1.63	68.97	26.60	0.55	10.41	64.46	0.02	0.04
S20	0.12	17.42	7.11	1.59	70.45	26.08	0.22	15.51	66.89	0.01	0.08
S21	0.11	10.83	8.12	1.64	66.27	26.16	0.64	15.25	72.32	0.04	0.04
S22	0.77	15.55	6.43	0.53	63.53	21.67	0.32	12.23	60.15	0.03	0.09
S23	0.19	9.26	6.51	0.56	56.84	23.14	0.29	10.67	50.03	0.03	0.11
S24	0.14	8.27	9.54	1.55	59.66	25.33	0.54	12.19	58.77	0.01	0.08
S25	0.21	19.21	9.63	1.39	53.15	21.43	0.60	15.34	54.62	0.01	0.31
S26	0.13	10.14	9.12	1.07	64.27	24.14	0.64	16.06	61.40	0.02	0.31
S27	0.14	20.90	4.21	1.75	70.60	22.55	0.66	16.49	67.45	0.02	0.04

3 讨论

在供试品前处理方法考察时，本实验考察了不同提取剂（50%甲醇、70%甲醇、99.5%甲醇、50%无水乙醇、70%无水乙醇、99.7%无水乙醇溶液），提取方法（超声提取和加热浸提），提取时间（15、30、60、90 min），提取次数（1、2、3、4 次），提取剂的体积（15、25、30、50 mL）对抹茶指纹图谱

提取效果的影响，以指纹图谱色谱峰数量、峰型和分离度为指标，最终确定采用 70%甲醇作为提取剂，25 mL 溶剂，超声 30 min，提取 1 次，作为供试品溶液处理方法。在波长选择时，因为本实验采用二极管阵列检测器，为了使色谱图基线平稳，色谱峰信息丰富，及目标化合物响应值增高，选择 5 个波长记录色谱图，分别是 220、270、278、330、360

nm; 结果表明在 278 nm 下的最大程度上全面展现目标化合物的色谱峰信息, 可满足指纹图谱建立要求, 故本实验选用 278 nm 作为检测波长。此外, 该样品化合物种类复杂, 进行了乙腈-水、甲醇-水, 2 个体系下的对色谱峰峰形以及分离度的考察, 乙腈-水体系表现出的结果优于甲醇-水体系, 但峰形欠佳, 所以考虑在水相中加入不同浓度的磷酸、甲酸、乙酸溶液, 结果表明加入磷酸效果较好, 各峰形有所改善, 分离度也得到提高。所以本实验采用乙腈-0.1%磷酸水溶液作为流动相。在实验过程中发现抹茶中化学成分复杂, 单个成分含量差异较大, 查阅相关文献发现与本实验得出的结论大致相同。

本实验对 27 批不同产地抹茶指纹图谱进行研究, 结合化学模式识别法分析, 可以更加全面客观地评价抹茶的质量。在指纹图谱相似度分析中, 27 批次样品相似度均高于 0.983, 表明不同产地抹茶化学成分组成较为相似, 但各批次样品之间化学成分含量存在一定差异。聚类分析将抹茶样品聚为 4 类, 大部分江口和瓮安的样品聚为一类; 而思南的抹茶样品单独聚为一类, 其原因可能是江口、瓮安有着相同的亚热带季风湿润气候, 降雨量充沛, 日照充足^[45-46]等适合抹茶的生长条件, 而思南地区相较于其气温较低, 风力较大, 对抹茶生长条件和环境较为严苛, 所以导致 S21 抹茶与其余批次抹茶之间质量上存在一定的差异, 单独聚为一类; S4、S6 聚为一类, 在样品研磨前处理过程中笔者发现这两批样品均出现研磨粒度较大的现象, 推测这一现象可能与聚类分析结果有联系。主成分分析确定产地为江口、瓮安的抹茶质量较好, 且该生长与地区气候、海拔、环境^[47-48]等有关, 根据主成分分析排名可得出其与海拔关系较大。该实验结果可以为后期研究提供参考价值。经过 PLS-DA 分析筛选出 9、13、8、22、14、7、2、4 号峰为差异标志物, 经比对, 其中 9 号峰为咖啡碱、13 号峰为 EGCG、8 号峰为儿茶素、22 号峰为山柰酚、14 号峰为 GCG、4 号峰为没食子酸, 其余差异标志物还有待后续进一步研究指认。

本研究建立了贵州 5 个不同产地抹茶的 HPLC 指纹图谱, 确定了 23 个共有峰, 结合化学模式识别法确定贵州江口、瓮安产地抹茶质量较好, 筛选出 8 个差异标志物, 并测定了抹茶中 11 个指标成分的含量, 有效补充了关于不同产地抹茶有效成分分析方向的空缺。所建方法准确度高、重复性好, 可用于抹茶的

质量控制。最后本实验对造成不同产地抹茶 11 个指标成分含量差异的因素进行了讨论分析, 希望对今后抹茶产业的选育、开发利用提供参考价值。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘东娜, 聂坤伦, 杜晓, 等. 抹茶品质的感官审评与成分分析 [J]. 食品科学, 2014, 35(2): 168-172.
- [2] Adhami V M, Ahmad N, Mukhtar H. Molecular targets for green tea in prostate cancer prevention [J]. *J Nutr*, 2003, 133(7): 2417S-2424S.
- [3] Das T, Sa G, Chattopadhyay S, et al. Black tea: The future panacea for cancer [J]. *Al Ameen J Med Sci*, 2008, 1: 70-83.
- [4] Xu X Y, Zhao C N, Cao S Y, et al. Effects and mechanisms of tea for the prevention and management of cancers: An updated review [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 60(10): 1693-1705.
- [5] Sivanesan I, Gopal J, Muthu M, et al. Retrospecting the antioxidant activity of Japanese matcha green tea—lack of enthusiasm? [J]. *Appl Sci*, 2021, 11(11): 5087.
- [6] Kochman J, Jakubczyk K, Antoniewicz J, et al. Health benefits and chemical composition of matcha green tea: A review [J]. *Molecules*, 2020, 26(1): 85.
- [7] Kurauchi Y, Devkota H P, Hori K, et al. Anxiolytic activities of Matcha tea powder, extracts, and fractions in mice: Contribution of dopamine D1 receptor- and serotonin 5-HT_{1A} receptor-mediated mechanisms [J]. *J Funct Foods*, 2019, 59: 301-308.
- [8] Yanagimoto K, Ochi H, Lee K G, et al. Antioxidative activities of volatile extracts from green tea, oolong tea, and black tea [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(25): 7396-7401.
- [9] Juneja L R, Chu D C, Okubo T, et al. L-theanine—a unique amino acid of green tea and its relaxation effect in humans [J]. *Trends Food Sci Technol*, 1999, 10(6/7): 199-204.
- [10] Gupta D A, Bhaskar D J, Gupta R K, et al. Green tea: A review on its natural anti-oxidant therapy and cariostatic benefits [J]. *Eur Food Res Technol*, 2022, 248(1): 119-128.
- [11] Bernatoniene J, Kopustinskiene D M. The role of catechins in cellular responses to oxidative stress [J]. *Molecules*, 2018, 23(4): E965.
- [12] Masek A, Chrzescijanska E, Latos M, et al. Antioxidant and antiradical properties of green tea extract compounds [J]. *Internat J Electrochem Sci*, 2017: 6600-6610. doi:10.20964/2017.07.06.
- [13] Singh B N, Shankar S, Srivastava R K. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Mechanisms, perspectives and clinical applications [J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82(12): 1807-1821.
- [14] Yang Y H, Zhang T. Antimicrobial activities of tea

- polyphenol on phytopathogens: A review [J]. *Molecules*, 2019, 24(4): 816.
- [15] Yoshizawa S, Horiuchi T, Suganuma M, *et al.* Penta-O-galloyl- β -D-glucose and (-)-epigallocatechin gallate [J]. *Cancer Prevent Agents Chapter*, 1992, 25: 25-28.
- [16] Beltz L A, Bayer D K, Moss A L, *et al.* Mechanisms of cancer prevention by green and black tea polyphenols [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2006, 6(5): 389-406.
- [17] Graham H N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry [J]. *Prev Med*, 1992, 21(3): 334-350.
- [18] Komatsu Y, Suematsu S, Hisanobu Y, *et al.* Effects of pH and temperature on reaction kinetics of catechins in green tea infusion [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1993, 57(6): 907-910.
- [19] Ahmad N, Mukhtar H. Green tea polyphenols and cancer: Biologic mechanisms and practical implications [J]. *Nutr Rev*, 1999, 57(3): 78-83.
- [20] Wang Y, Yu Y, Ding L, *et al.* Matcha green tea targets the gut-liver axis to alleviate obesity and metabolic disorders induced by a high-fat diet [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 931060.
- [21] Kolářčková T, Sumczynski D, Zálesáková L, *et al.* Free and bound amino acids, minerals and trace elements in matcha (*Camellia sinensis* L.): A nutritional evaluation [J]. *J Food Compos Anal*, 2020, 92: 103581.
- [22] Unno K, Furushima D, Hamamoto S, *et al.* Stress-reducing function of matcha green tea in animal experiments and clinical trials [J]. *Nutrients*, 2018, 10(10): 1468.
- [23] Governa P, Manetti F, Miraldi E, *et al.* Effects of *in vitro* simulated digestion on the antioxidant activity of different *Camellia sinensis* (L.) Kuntze leaves extracts [J]. *Eur Food Res Technol*, 2022, 248(1): 119-128.
- [24] Kim J M, Lee U, Kang J Y, *et al.* Matcha improves metabolic imbalance-induced cognitive dysfunction [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 8882763.
- [25] Sakurai K, Shen C T, Ezaki Y, *et al.* Effects of matcha green tea powder on cognitive functions of community-dwelling elderly individuals [J]. *Nutrients*, 2020, 12(12): 3639.
- [26] Igarashi K, Takagi M, Fukushima Y. The effects of matcha and decaffeinated matcha on learning, memory and proteomics of hippocampus in senescence-accelerated (SAMP8) mice [J]. *Nutrients*, 2022, 14(6): 1197.
- [27] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. *中草药*, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [28] 高慧, 何秋梅, 白燕远, 等. 金花茶 UPLC 指纹图谱的建立及亲缘关系分析 [J]. *中草药*, 2022, 53(13): 4119-4124.
- [29] 何琴慧, 姜雨辰, 王文玲, 等. 茶藤生物碱成分的分离鉴定及抗肿瘤活性研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(3): 704-710.
- [30] 周明阳. 贵州茶产业品牌化发展 SWOT 分析 [J]. *农村经济与科技*, 2016, 27(19): 169-171.
- [31] 牛丛丛, 张禹佳, 吴小文, 等. 贵州抹茶产业发展 SWOT 分析 [J]. *农技服务*, 2021, 38(06): 140-141.
- [32] 吴月园, 杨福生, 文江俊. 贵州瓮安抹茶产业现状及发展 [J]. *现代营销 (下旬刊)*, 2022(07): 57-59.
- [33] 黄厅厅, 徐代刚. 贵州铜仁抹茶产业高质量发展的实践与愿景 [J]. *茶业通报*, 2022, 44(4): 157-161.
- [34] 胡晓燕, 范秀章, 蒋小迷, 等. 贵州抹茶发展现状及前景展望 [J]. *安徽农业科学*, 2022, 50(13): 259-261.
- [35] 杨思怡, 田芸, 孙海燕, 等. 抹茶的研究现状及展望 [J]. *当代化工研究*, 2023(5): 17-19.
- [36] 罗家敏, 高雯, 李萍. 指纹图谱结合一测多评法的栀子质量控制方法研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(11): 3480-3486.
- [37] 胥爱丽, 钟惠娴, 孙冬梅, 等. 基于 HPLC 指纹图谱成分含量和化学模式识别不同产地防风与水防风 [J]. *中成药*, 2023, 45(5): 1557-1565.
- [38] 谭沛, 郑晓英, 江斌, 等. 基于多基原及系统聚类分析研究赤芍标准汤剂的指纹图谱 [J]. *中国医院药学杂志*, 2020, 40(9): 1001-1008.
- [39] 喻星辰, 管亮, 李子存, 等. 一种基于石墨化炭黑过滤吸附处理荧光抑制和改进系统聚类分析的轻质燃油种类拉曼光谱快速识别方法 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2019, 39(3): 807-812.
- [40] 徐梦婷, 王强, 郝艳宾, 等. 基于主成分分析的核桃品种油用性状综合评价 [J]. *食品工业科技*, 2024, 45(2): 235-242.
- [41] 许九红, 王修俊, 聂黔丽, 等. 基于两次发酵法遵义特色泡辣椒游离氨基酸组成的主成分分析及综合评价 [J/OL]. *食品工业科技*: [2023-08-12]. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030280.
- [42] 何佳, 黄文康, 马相锋, 等. 基于主成分分析与 PLS-DA 分析研究浙麦冬道地性与等级评价标准 [J]. *中国药理学杂志*, 2021, 56(4): 285-292.
- [43] 潘婉舒, 胡先强, 张正义, 等. 基于 HS-SPME-GC-MS 和 PLS-DA 分析不同季节早白尖红茶挥发性风味物质 [J]. *食品工业科技*, 2023, 44(1): 277-283.
- [44] 肖楚. 铜仁市抹茶产业发展策略初探 [J]. *中国茶叶*, 2019, 41(11): 58-59.
- [45] 田爱国. 贵州省茶产业竞争力研究 [J]. *中国茶叶加工*, 2017(2): 34-41.
- [46] 吴道良. 红河州不同海拔高度茶树主要品质成分与生理学特性的变化 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- [47] 袁杰, 翁连进, 耿頔, 等. 茶叶香气的影响因素 [J]. *氨基酸和生物资源*, 2014, 36(1): 14-18.
- [48] 沈炜, 尹军峰, 陈根生. 我国抹茶产业现状与创新发展 [J]. *中国茶叶*, 2020, 42(10): 9-13.

[责任编辑 时圣明]