

茶叶中生物碱检测方法的研究进展

郑美慧¹, 田玉凤¹, 桂荣娟¹, 田晓静^{1,2*}, 丁功涛², 王溪桥³, 诺茹·伊扎·诺丁⁴

(1. 西北民族大学生命科学与工程学院, 兰州 730100; 2. 西北民族大学生物医学研究中心, 兰州 730100;
3. 兰州海关综合技术中心, 兰州 730100; 4. 马来西亚标准与工业研究所工业生物技术研究中心,
马来西亚雪兰莪州莎阿南新区, 市部长拿督路1号, 40700)

摘 要: 茶叶作为主要饮品之一, 对茶叶品质评定是必不可少的一个过程。茶叶的品质除了感官评定其色、香、味, 还可通过测定其茶多酚、氨基酸、矿物质、蛋白质、生物碱等活性成分的综合含量来评定。生物碱是茶叶中的主要活性成分之一, 不仅决定着茶叶的品质, 对人体也具有一定的有益作用。生物碱的快速、高效检测方法是茶叶品质评估和茶叶中生物碱提取及含量检测的前提和关键。本文参考了国内及国外对茶叶中生物碱研究方法的相关文献, 对茶叶生物碱(主要是咖啡碱、可可碱、茶叶碱)最主要的检测方法进行了综述。为进一步研究茶叶中生物碱及测定其含量, 评估茶叶的品质提供参考。

关键词: 茶叶; 生物碱; 检测方法

Research progress on detection methods of alkaloids in tea

ZHENG Mei-Hui¹, TIAN Yu-Feng¹, GUI Rong-Juan¹, TIAN Xiao-Jing^{1,2*}, DING Gong-Tao², WANG Xi-Qiao³, Nurul Izza Nordin⁴

(1. College of Life Science and Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou 730100, China; 2. Biomedical Research Center, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, China; 3. Integrated Technology Center of Lanzhou Customs, Lanzhou 730100, China; 4. Industrial Biotechnology Research Centre, SIRIM Berhad, 1, Persiaran Dato' Menteri, Section 2, 40700 Shah Alam, Selangor, Malaysia)

ABSTRACT: As one of the main drinks, tea quality assessment is an essential process. In addition to the senses to assess its color, aroma, taste, but also by measuring the comprehensive content of its tea polyphenols, amino acids, minerals, proteins, alkaloids and other active ingredients to be assessed. Alkaloid is one of the main active ingredients in tea, which not only determines the quality of tea, but also has a beneficial effect on the human body. The fast and efficient alkaloid testing method is the premise and key of tea quality assessment and alkaloid extraction and content detection in tea. In this paper, the research progress of tea alkaloids (mainly caffeine, theobromine and theophylline) was reviewed by referring to the domestic and foreign literatures on the research methods of alkaloids in tea leaves. In order to further study the alkaloid in tea, determine its content and evaluate the quality of tea.

KEY WORDS: tea; alkaloid; test method

基金项目: 科技部援助项目(KY201501005)、中央高校基本科研业务费专项项目(31920180001)、教育部动物医学生物工程创新团队(IRT_17R88)

Fund: Supported by Ministry of Science and Technology Assistance Project Funding (KY201501005), The Central University Basic Scientific Research Operation Expense Specialized Master Fund Supports (31920180001), Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (IRT_17R88)

*通讯作者: 田晓静, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品、农产品品质检测研究。E-mail: smile_tian@yeah.net

*Corresponding author: TIAN Xiao-Jing, Ph.D, Associate Professor, College of Life Science and Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou 730100, China. E-mail: smile_tian@yeah.net

1 引言

茶是世界三大饮料之一,我国拥有上千年的饮茶历史。茶叶中生物活性成分主要包含多酚类化合物、生物碱、茶蛋白、茶多糖、茶叶皂甙等^[1]。这使得茶叶具有抗衰老^[2]、高免疫力^[3]、降血糖^[4]、抗抑郁^[5]等功效。其中,茶叶生物碱是指传统茶叶植物体内富含的一类含氮杂环结构的有机化合物,主要是嘌呤类生物碱,目前共发现 8 种嘌呤碱,即咖啡碱、可可碱、茶叶碱、腺嘌呤、鸟嘌呤、黄嘌呤、次黄嘌呤和拟黄嘌呤等,其中咖啡碱含量最多^[6,7]。茶叶生物碱对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌具有抑制作用,且混合茶碱对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌效果更好^[8]。此外,茶叶中咖啡碱具有增强大脑皮质的兴奋程度,减少疲乏感、提高思维效率、利尿等作用^[9,10]。生物碱不仅是茶叶中的活性物质,也决定了茶汤的滋味、颜色^[11],是茶叶区别于其他植物而成为饮料的主要原因。因此,高效准确的测定茶叶中生物碱的含量,对评估茶叶的品质、茶叶加工及深加工、茶叶贸易和其功效有重要意义。

本文主要综述了茶叶中生物碱检测的几种最常用方法,包含分光光度法、红外光谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法、质谱法及其联用技术、毛细管电泳法检测生物碱含量的研究以及检测方法的特点和效果,以期对检测茶叶中生物碱提供一定的参考,进一步加快我国茶产业的可持续发展。

2 茶叶生物碱检测方法

为评价茶叶品质,多种检测方法应用于茶叶生物碱含量的检测。1949 年 Fungairino L. 等^[12]用重铬酸钾滴定法测定了茶叶、咖啡中的黄嘌呤碱。随后光谱法、色谱法、毛细管电泳法等测定生物碱的技术才逐步发展起来。

2.1 光谱学方法

2.1.1 分光光度法

分光光度法是测定茶叶中生物碱含量的常用方法,主要利用茶叶嘌呤生物碱结构上嘌呤环共轭双链体系所具有独特的吸收光谱在 272~274 nm 具有最大吸收值。林郑和等^[13]采用紫外分光光度法建立了茶叶中嘌呤碱的检测方法,测得茶叶中嘌呤碱的总量为 86.4 mg,准确度高达 93.8%。基于咖啡因与邻苯二胺在酸性加热条件下反应生成浅黄色杂环物质的原理,廖晓玲^[14]提出了茶叶中咖啡因的可见分光光度法检测。杨言言等^[15,16]采用紫外分光光度法在波长为 272~274 nm 时建立了安徽罗汉尖老茶中咖啡因测定方法,平均回收率为 97.7%, r 为 0.998。凌彩金等^[17]采用紫外分光光度法在波长为 280 nm 处测定了不同季节英红九号红茶的茶多酚、咖啡碱含量,结果表明,不同季节英红九号红茶的茶多酚、咖啡碱含量差异显著,并

用聚类分析法构建英红九号红茶生化成分指纹图谱,结果显示,不同季节英红九号红茶中咖啡碱含量占生化成分的比例分别为:夏茶 3.63%~3.96%,秋茶 2.89%~3.22%,春茶 2.94%~3.64%。

利用分光光度法测定茶叶中的生物碱,具有操作简单,重复性好,快速准确的特点,但分光光度法存在灵敏度和分辨率低、样品量大的缺点。

2.1.2 红外光谱法

利用茶叶中一些含氢基团的波段吸收,结合分析仪器与化学计量统计方法,红外光谱法(infrared spectroscopy, IS)已应用于茶中茶多酚、咖啡碱、总氮量、粗纤维等成分的定量分析。陈全胜^[18]运用近红外光谱技术建立了绿茶中咖啡碱和茶多酚的有效定标模型,咖啡碱的相关系数为 0.9688,茶多酚的相关系数为 0.9299。赵红波等^[19]利用近红外光谱建立茶叶中咖啡碱含量的分析模型,相关系数 r 为 0.991,预测均方根误差(root mean square error of prediction, RMSEP)为 0.242,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.16%~0.30%。张雪娟等^[20]利用红外光谱分别对普洱熟茶、陈年熟普、普洱熟沱、三级熟普获得的咖啡碱含量与紫外分光光度法测定结果一致,即三级熟普中咖啡因含量最高,普洱熟沱中的含量最低。赵晓辉等^[21]采用近红外光谱法分析了不同产地碧螺春和铁观音中咖啡因、谷氨酸含量的差异。黄鸿等^[22]通过傅里叶变换红外光谱(Fourier transforms infrared spectroscopy, FTIR)技术获得的茶叶中咖啡因含量与高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)获得的平均值接近,FTIR 可应用于红茶茶中咖啡因的快速检测,咖啡因的检测限为 0.035 mg/mL。刘洋等^[23]利用近红外光谱法对信阳毛尖茶品质进行判别,相关系数为 0.994,预测准确率为 100%。

近红外光谱分析具有方便、快速、准确、稳定及多种成分同时定量分析等优点,可快速测定茶叶品质成分,但对茶叶中生物碱定量分析的是茶叶中生物碱的总量,而不能具体检测出茶叶中含有哪几种生物碱。

2.1.3 拉曼光谱法

拉曼光谱是光照射到物质上发生的非弹性散射所产生的,通过分子内部各种简正振动频率及相关能级的情况来鉴定分子中存在的官能团,可以与红外光谱互补,衍生出来的技术包括表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)、共焦显微拉曼光谱(cofocus micro Raman spectra, CMRS)、傅里叶变换拉曼光谱(Fourier transform-Raman spectroscopy, FTRS)等^[24]。陈荣等^[25]首次采用 CMRS 技术测试研究了 *L*-茶氨酸,得到了 *L*-茶氨酸的拉曼谱图,发现在 250~1700 cm^{-1} 和 2800~3000 cm^{-1} 能够观测到明显的拉曼信号;通过对其进行初步的谱峰归属和分析,得到了不同波数范围内的特征振动模式;其中,在 321、900、938、1153、1312、1358、1454 和 1647 cm^{-1}

处找到 8 个强度的拉曼信号,可作为 *L*-茶氨酸的特征峰。结果表明,拉曼光谱可能成为一种直接、准确和快速检测茶叶活性成分的方法。房若宇^[26]将激光拉曼光谱法和紫外光谱法相结合,对碧螺春、龙井和普洱 3 种茶叶经过一次浸泡而得到的饮用茶水进行咖啡因的直接定性和定量检测,得到其激光拉曼光谱图,结果显示 3 种茶水样品中咖啡因的特征吸收峰分别出现在 263.8、263.9、267.9 nm 处,根据特征峰的强度可以判断出咖啡因含量的高低。郑华军等^[27]对 SERS 检测技术在咖啡碱定量检测中的应用进行研究,结果表明,当咖啡碱溶液浓度低至 10^{-9} mol/L 时,位于 807、958、1040 以及 1327 cm^{-1} 等处的 SERS 信号依然清晰可见,表明以花银状纳米颗粒为衬底的 SERS 检测技术对于咖啡碱有极高的敏感性,检测限可达 10^{-9} mol/L;咖啡碱溶液的浓度与其 SERS 光谱强度的相关回归方程为: $Y=10041.0-0.9X807-3.1X1327+1.4X126$ 。

2.2 色谱学方法

2.2.1 高效液相色谱法

自 1982 年报道了红茶中咖啡碱、可可碱和茶碱的高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)测定方法后,诸多专家、学者在对茶叶生物碱检测中色谱柱、流动相、柱温及检测方式的选择方面做了大量的研究工作。

HPLC 检测茶叶中生物碱、茶氨酸的含量时,色谱柱一般为 C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm),柱温为室温 40 $^{\circ}\text{C}$ 。但检测不同品种的茶叶,流速、流动相、检测波长不相同,如表 1 所示。针对不同种茶叶中咖啡碱、可可碱、茶碱含量的

测定,检测白毛茶、普洱茶和黑茶的流速为 1.0 mL/min,检测波长分别为 260、254 和 274 nm;而针对广东绿茶中咖啡碱、可可碱、茶碱的含量测定,流速为 0.8 mL/min,检测波长为 270 nm;湖南红茶中氨基酸含量的测定,色谱柱温度为室温,流速为 1.0 mL/min,检测波长为 203 nm。白毛茶咖啡碱、可可碱、茶碱检测限为 5.4、4.4、4.2 $\mu\text{g/L}$, *r* 值为 0.9997、0.9999、0.9999, RSD 分别为 0.24%、0.36%、0.88%。广东绿茶咖啡碱、可可碱、茶碱检测限为 1.8、0.7、0.9 mg/L, *r* 值 0.999、0.999、0.998, RSD 分别为 2.02%、4.01%、8.54%。普洱茶咖啡碱、可可碱、茶碱检测限为 0.03、0.03、0.007 $\mu\text{g/L}$, *r* 值 0.997、0.9962、0.9928, RSD 为 0.05%、0.11%、0.16%。湖南红茶和黑茶的检测限分别为 10 $\mu\text{g/mL}$, 0.018 mg/mL, *r* 值为 0.9998, 0.9936, RSD 为 0.43%, 0.3999%。

高效液相色谱法测定茶叶中的生物碱,分离效率、准确度及回收率高,且精密性、重复性、稳定性较好,但仪器设备价格相对昂贵,实验时溶剂需要严格纯化。

2.2.2 薄层色谱法

茶叶生物碱中各组分在某一物质中的吸附性不同,将各组分分离,再采用薄层扫描仪对色谱斑点进行扫描,与对照物所得的色谱图作对比从而实现定量的方法。罗健等^[45]首次用硅胶 GF254 分离茶叶乙醇提取物,并采用双波长扫描测定了茶叶中的咖啡碱,平均回收率为 97.37%。张凤等^[46]优化的分离工艺实现了咖啡因的分离, $r=0.99185$,线性范围以 5~120 μg ,平均加标回收率达到 91.93%, RSD=1.85%,能够准确测定咖啡因含量。Ligor 等^[47]研究了红茶、绿茶和路

表 1 茶叶生物碱、茶氨酸等活性成分检测色谱条件
Table 1 Active ingredients such as tea alkaloids and lyapin detect chromatography conditions

样品名称	化合物	柱子	柱温	流速 (mL/min)	流动相	检测波长/nm	检测限	<i>r</i> 值	RSD/%	参考文献
毛茶	咖啡碱	C_{18}	40 $^{\circ}\text{C}$	1.00	甲醇- KH_2PO_4 - $\text{Na}_2\text{HP0}_4$ 缓冲溶液	260	5.4 $\mu\text{g/L}$	0.9997	0.24	[28,29]
	可可碱						4.4 $\mu\text{g/L}$	0.9999	0.36	[30]
	茶碱						4.2 $\mu\text{g/L}$	0.9999	0.88	[31]
广东绿茶	咖啡碱	C_{18}	40 $^{\circ}\text{C}$	0.80	$V(\text{甲醇}):V(\text{水}):V(\text{乙酸}):V(\text{N,N-二甲基甲酰胺,简称 DMF})=30:70:0.05:0.25$ 的溶液	270	1.8 mg/L	0.999	2.02	[32]
	可可碱						0.7 mg/L	0.999	4.01	[33]
	茶碱						0.9 mg/L	0.998	8.54	[34]
普洱茶	咖啡碱	C_{18}	40 $^{\circ}\text{C}$	1.00	$V(\text{甲醇}):V(0.1\% \text{磷酸})=33:67$	254	0.03 $\mu\text{g/mL}$	0.9997	0.05	[35,36]
	可可碱						0.03 $\mu\text{g/mL}$	0.9962	0.11	[37]
	茶碱						0.007 $\mu\text{g/mL}$	0.9928	0.16	[38]
湖南红茶	茶氨酸	C_{18}	室温	1.00	甲醇-0.05%冰醋酸水溶液	203	10 $\mu\text{g/mL}$	0.9998	0.43	[39,42]
黑茶	咖啡因		25 $^{\circ}\text{C}$		水-甲醇-乙酸-二甲基酰胺(70:30:0.05:0.25)	274	0.018 mg/mL	0.9936	0.399	[43,44]

依保斯茶 3 种茶叶中活性物质黄酮类的薄层色谱法(thin-layer chromatography, TLC)检测方法, 将经典液相萃取提取方法(liquid extraction, LE)和超临界流体萃取法(supercritical fluid extraction, SFE)作比较, 并用 TLC 法检测在不同提取方法下活性成分的量。对照成分包括芦丁、儿茶酚、咖啡因、橡胶素等。结果显示, 经典液相萃取法分离效果较好, R_f 为 0.28~0.87。

薄层色谱法具有准确、灵敏度高、简便的优点; 但是受天气影响较大, 湿度大时扫描稍差。

2.2.3 质谱法及其联用技术

质谱技术具有的高灵敏度、高选择性以及可进行多种组分同时测定的优点, 使其成为与分离技术如色谱联用的重要分析手段。高效液相-质谱联用技术^[48](high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)应用于茶叶生物碱已有较多研究, 如 Zhu 等^[49]采用 HPLC-MS 建立了茶叶中儿茶素、酚酸和嘌呤碱的分析方法, 定量分析了 12 种化合物, 其中咖啡碱、可可碱和茶叶碱的定量检测限均小于 0.1 ng。Magdalena 等^[50,51]采用液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)对生物活性成分进行定量分析, 山茶花中咖啡因含量为 6.2~14.19 mg/g, 越南凉茶中可可碱和茶碱含量为 2.97 mg/g。张晗^[52]通过建立高效液相色谱-电喷雾离子-质谱联用技术(high-efficiency liquid chromatography-electric spray ion-mass spectrometry, HPLC-ESI-MS/MS)同时检测可可碱、茶叶碱和咖啡碱 3 种活性成分。实验采用 Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱, 流动相为 0.5%甲酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱, 流速为 0.2 mL/min, 柱温为 35 °C; 质谱条件: 电喷雾电离源(ESI); 正离子扫描; 多反应监测模式(multiple response monitoring model, MRM); 喷雾针电压: 4500 V; 干燥气温度: 350 °C; 干燥气压力: 25 psi; 碰撞气压力: 1.5 mT。实验结果显示, 在最佳实验条件下, 可可碱、茶叶碱和咖啡碱的回归方程和相关系数依次为 $Y=154107X-90789$, $r^2=0.9991$; $Y=145178X-77282$, $r^2=0.9989$ 和 $Y=112287X+693$, $r^2=0.9996$, 检出限分别为 2、7 和 0.8 $\mu\text{g/L}$, 加标回收率分别为 99.3%、99.9% 和 99.8%。目前茶叶中已发现和鉴定的嘌呤生物碱共 8 种, 通常 HPLC 法只能测得咖啡碱、可可碱和茶碱 3 种, 其余 5 种在茶叶中含量太低, 远低于 HPLC 法的检出限, 但是 MS 的高灵敏度和高选择性可以检出^[53]。此外运用 HPLC-MS 还可以对茶汤中的一些未知成分进行定性, 这对茶叶品质成分的深入剖析具有重要意义。

2.3 毛细管电泳法

20 世纪 90 年代, 毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)以快速、高效和灵敏度高、所需样品少等优点迅速发展为一种分离分析技术。Hideki H 等^[54]采用硅毛细管柱, pH 8.0 硼砂缓冲液, 检测波长 200 nm, 检测绿茶中的主要成分表儿茶素(catechinic acid, EC)、表没食子儿茶素

(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, ECGG)、咖啡碱、茶氨酸和抗坏血酸的含量, 分析时间仅 11 min。Acre L 等^[55]采用 57、75 μm 内径, 375 μm 外径的毛细管柱, 用 pH 8.5, 0.15 mol/L 硼酸缓冲液, 电压 20 kV, 在波长 210 nm 下测定了绿茶中咖啡碱、腺嘌呤、1,3-二甲基黄嘌呤、EGCG、EGC、ECG、(-)EC、(+)C、没食子酸、槲皮素 10 种成分。Chen 等^[56]应用毛细管电泳及电化学检测分离和测定茶碱、黄嘌呤、次黄嘌呤等 6 种嘌呤, 经过优化处理后, 于 14 min 完成了对茶碱及其他 5 种嘌呤碱的分离检测, 化合物检测限范围 $0.157\times 10^{-6}\sim 0.767\times 10^{-6}$ mol/L。

CE 法与 HPLC 法相比, 在定量分析方面有一些不足, CE 法的灵敏度通常低于 HPLC 法; 重现性差, 色谱峰太锐, 对峰面积的积分有较大的误差, 此外, CE 的进样量也影响准确的定量。

3 结 论

随着社会经济的发展, 茶叶中活性物质的检测技术也在不断发展和进步, 本文主要综述了茶叶中生物碱常用检测方法, 主要包括毛细管电泳法、分光光度法、红外光谱法、拉曼光谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法、质谱法及其联用技术。其中, 高效液相色谱法灵敏度高、精确度好, 在茶叶活性成分的检测中应用广泛。分光光度法、红外光谱法、毛细管电泳法等检测茶叶活性成分时都有其优缺点, 进行茶叶成分检测时应根据实际情况选择合适的检测方法。另外, 虽然我国检测茶叶生物碱的方法在不断得到完善, 但对于茶叶中活性成分、滋味成分、药用成分等的分析检验和质量评价, 研究简便、快速且准确的分析方法仍具有重要的现实意义。

参考文献

- [1] 吕娜. 茶叶的生物活性成分及其生物学作用[J]. 产业与科技论坛, 2014, 13(21): 63-64.
Lv N. Bioactive constituents of tea and their biological effects [J]. Estate Sci Tribune, 2014, 13(21): 63-64.
- [2] 奚茜. 茶性、茶效与茶用的文献研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
Xi Q. Literature research on tea quality, tea effect and tea use [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2017.
- [3] 官兴丽, 刘跃云. 茶叶咖啡碱的功效及含量测定研究进展[J]. 福建茶叶, 2012, 34(3): 5-8.
Guang XL, Liu YY. Research progress on efficacy and content determination of tea caffeine [J]. J Fujian Tea, 2012, 34(3): 5-8.
- [4] 李兰. 绿茶提取物的降血糖研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
Li L. Study on hypoglycemic effect of green tea extract [D]. Hangzhou: J Zhejiang Univ, 2014.
- [5] 谢果. 茶叶嘌呤生物碱抗抑郁作用及其机制的研究[D]. 广州: 暨南大学, 2010.
Xie G. Study on anti-depression effect and mechanism of tea purine

- alkaloid [D]. Guangzhou: Jinan University, 2010.
- [6] 余芳. 茶叶生物活性成分的功能与提取制备[J]. 江苏调味副食品, 2010, 27(2): 42–45.
- Yu F. Function and extraction of bioactive components from tea leaves [J]. Jiangsu Flavoured Non-Staple Food, 2010, 27(2): 42–45.
- [7] 刘存芳. 茶叶中生物活性成分的研究现状[J]. 中国科技信息, 2008, (8): 85–88.
- Liu CF. Research status of bioactive components in tea leaves [J]. Sci Chin Inform Sci, 2008, (8): 85–88.
- [8] 谭和平, 叶善蓉, 邹燕. 茶叶中生物碱的分析方法概述[J]. 中国测试技术, 2008, 34(5): 5–9.
- Tan HP, Ye SR, Zou Y. An overview of analytical methods for alkaloids in tea leaves [J]. Chin Test Technol, 2008, 34(5): 5–9.
- [9] 何龙, 李红, 李招, 等. 茶叶中生物碱的提取及抑菌作用的探究[J]. 山东化工, 2016, 45(9): 6–8.
- He L, Li H, Li Z, *et al.* Extraction of alkaloids from tea leaves and research on their bacteriostatic effects [J]. Shandong Chem Indu, 2016, 45(9): 6–8.
- [10] 林智, 吕海鹏, 张盛. 茶叶活性成分的化学和药理作用[J]. 中国茶叶, 2018, 40(11): 1–6.
- Lin Z, Lv HP, Zhang S. Chemical and pharmacological effects of tea active ingredients [J]. J Chin Tea, 2018, 40(11): 1–6.
- [11] 陈然, 孟庆佳, 刘海新, 等. 不同种类茶叶多酚及生物碱含量特点分析[J]. 食品科技, 2018, 43(5): 72–76.
- Chen R, Meng QJ, Liu HX, *et al.* Analysis of polyphenols and alkaloids in different tea leaves [J]. J Food Sci Technol, 2018, 43(5): 72–76.
- [12] Fungairino L, Villanua, Garcia-Puertas P. Determination of xanthine bases in coffee tea and cola nuts [J]. Anal Bromatol, 1949, 1219–1234.
- [13] 林郑和, 严兰芳. 紫外分光光度法测定茶叶中的咖啡碱[J]. 茶叶科学技术, 2001, (4): 20–21.
- Lin ZH, Yan LF. Determination of theine in tea by ultraviolet spectrophotometry [J]. J Tea Sci Technol, 2001, (4): 20–21.
- [14] 廖晓玲. 茶叶功效成分-茶多酚、咖啡因分析测定方法的研究[D]. 西安: 西北大学, 2002.
- Liao XL. Study on determination method of tea polyphenols and caffeine [D]. Xi'an: Northwest University, 2002.
- [15] 杨言言, 张铁铭. 紫外分光光度法测定安徽罗汉尖老茶中咖啡因含量[J]. 安徽中医学报, 2012, 25(3): 72–73.
- Yang YY, Zhang YM. Determination of caffeine in anhui luohan jianlao tea by ultraviolet spectrophotometry [J]. J Anhui Coll Tradit Chin Med, 2012, 25(3): 72–73.
- [16] 王乐, 贾宗平, 赵文成, 等. 咖啡因检测方法研究进展[J]. 云南警官学院学报, 2019, 42(1): 19–27.
- Wang L, Jia ZP, Zhao WC, *et al.* Advances in caffeine detection methods [J]. J Yunnan Poli Coll, 2019, 42(1): 19–27.
- [17] 凌彩金, 范杰文, 刘淑媚, 等. 英红九号红茶生化成分指纹图谱初探[J]. 广东农业科学, 2018, 45(12): 95–100.
- Ling CJ, Fan JW, Liu SM, *et al.* Preliminary study on fingerprint of biochemical components of yinghong no. 9 black tea [J]. Guangdong Agric Sci, 2018, 45(12): 95–100.
- [18] 陈全胜. 通过近红外反射光谱法对绿茶中的茶多酚和咖啡因的含量进行测定[J]. 微量化学杂志, 2006, (83): 42–47.
- Chen QR. The content of tea polyphenols and caffeine in green tea was determined by near infrared reflectance spectrometry [J]. J Micro Chem, 2006, (83): 42–47.
- [19] 赵红波, 谭红, 徐玮, 等. 近红外光谱法对茶叶中的咖啡碱含量的快速测定[J]. 中国酿造, 2011, 30(8): 169–171.
- Zhao HB, Tan H, Xv W, *et al.* Rapid determination of theine content in tea leaves by near infrared spectroscopy [J]. Chin Brew, 2011, 30(8): 169–171.
- [20] 张雪娟, 李亮星, 胡栋宝, 等. 普洱茶中咖啡因含量的红外光谱法快速判别[J]. 玉溪师范学院学报, 2016, 32(12): 27–31.
- Zhang XJ, Li LX, Hu DB, *et al.* Rapid determination of caffeine content in pu'er tea by infrared spectroscopy [J]. J Yuxi Nor Univ, 2016, 32(12): 27–31.
- [21] 赵晓辉, 裴志鑫, 张连水, 等. 茶叶及其组份的红外光谱研究[J]. 光学学报, 2009, 29(2): 533–536.
- Zhao XH, Nie ZC, Zhang LS, *et al.* Study on infrared spectrum of tea and its components [J]. J Opt, 2009, 29(2): 533–536.
- [22] 黄鸿, 夏晓艳, 赵余庆. 茶叶中茶氨酸、咖啡因和茶碱检测方法的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2018, 35(8): 696–706.
- Huang H, Xia XY, Zhao YQ. Research progress on determination of theanine, caffeine and theophylline in tea leaves [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2018, 35(8): 696–706.
- [23] 刘洋, 余天星. 基于近红外光谱技术的信阳毛尖品质判别研究[J]. 现代食品科技, 2018, 34(8): 225–230.
- Liu Y, Yu TX. Study on quality discrimination of xinyang tip based on near infrared spectroscopy [J]. Mod Food Sci, 2018, 34(8): 225–230.
- [24] 田国辉, 陈亚杰, 冯清茂. 拉曼光谱的发展及应用[J]. 化学工程师, 2008, 148(1): 34–36.
- Tian GH, Chen YJ, Feng QM. Development and application of Raman spectroscopy [J]. Chem Eng J, 2008, 148(1): 34–36.
- [25] 陈永坚, 陈荣, 李永增, 等. 茶氨酸拉曼光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(11): 2961–2964.
- Chen YJ, Chen R, Li YZ, *et al.* Analysis of theanine Raman spectra [J]. Spectrosc Spect Anal, 2011, 31(11): 2961–2964.
- [26] 房若宇. 激光拉曼光谱结合紫外光谱检测茶水中的咖啡因[J]. 大学物理实验, 2013, 26(2): 13–15.
- Fang RY. Detection of caffeine in tea by laser Raman spectroscopy combined with ultraviolet spectroscopy [J]. Coll Phys Exp, 2013, 26(2): 13–15.
- [27] 郑华军. 基于SERS技术的茶叶咖啡碱和茶氨酸快速检测方法研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- Zheng HJ. Research on fast detection methods of tea caffeine and theanine based on SERS technology [D]. Wuhan: J Huazhong Univ Agric, 2016.
- [28] 凌育赵. 反相高效液相色谱测定白毛茶水提取物中的嘌呤碱[J]. 现代食品科技, 2005, 21(2): 147–149, 137.
- Ling YZ. Determination of purine and alkali in water extract of white hair tea by rp-hplc [J]. Mod Food Tech, 2005, 21(2): 147–149, 137.
- [29] Tan JF, Ulrich H. Engelhardt, *et al.* Flavonoids, phenolic acids, alkaloids and theanine in different types of authentic Chinese white tea samples [J]. J Food Composition Anal, 2017, (57): 8–15.
- [30] 刘志彬, 张是宁, 张雯, 等. 高效液相色谱法分析武夷岩茶中的生物碱含量[J]. 食品与机械, 2016, 32(10): 27–29, 43.
- Liu ZL, Zhang SL, Zhang W, *et al.* Analysis of alkaloids in wuyi rock tea by HPLC [J]. Food Mach, 2016, 32(10): 27–29, 43.
- [31] 朱叶梅, 张雯, 包葵, 等. HPLC 法测定茶叶中的 7 种多酚类化合物的含量[J]. 云南化工, 2018, 45, (9): 66–68.
- Zhu YM, Zhang W, Bao Y, *et al.* The content of seven polyphenols in tea was determined by HPLC [J]. Chem Ind Yunnan, 2018, 45(9): 66–68.
- [32] 丁明玉, 杨海军, 肖善强, 等. 反相高效液相色谱法直接测定茶叶水提取物中的嘌呤碱[J]. 色谱, 1999, (5): 459–461.
- Ding MY, Yang HJ, Xiao SQ, *et al.* The purine base in tea water extract was determined by reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. Chromatogr, 1999, (5): 459–461.
- [33] 王延云, 王燕. 峨眉山地区 7 种绿茶中咖啡碱测定及比较[J]. 食品

- 工业, 2015, 36(9): 288–290.
- Wang YY, Wang Y. Determination and comparison of theine in 7 kinds of green tea leaves in Emei mountain area [J]. Food Ind, 2015, 36(9): 288–290.
- [34] 满雪玉, 曹礼刚, 蒙朝阳, 等. 模拟日常饮茶方式浸泡茶水中咖啡因测定[J]. 云南化工, 2018, 45(2): 59–61.
- Man XY, Cao LG, Meng CY, *et al.* The determination of caffeine in tea was simulated by immersing tea in the way of daily tea drinking [J]. Chem Ind Yunnan, 2018, 45(2): 59–61.
- [35] 张立军, 马志刚. 云南勐海地区几种古树茶中生物碱含量的测定[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2013, 35(S2): 339–343.
- Zhang LJ, Ma ZG. Determination of alkaloids in several ancient tree tea in menghai prefecture yunnan province [J]. J Yunan Univ (Nat Sci Ed), 2013, 35(S2): 339–343.
- [36] 浦绍柳, 范承胜. 云南不同茶区的名山古树茶品质比较研究[J]. 西南农业学报, 2019, 32(3): 484–488.
- Pu SL, Fan CS. Comparative study on the quality of famous mountain ancient tree tea in different tea areas in yunnan [J]. J Southwest Agric, 2019, 32(3): 484–488.
- [37] 赵卫星, 姜红波, 冯国栋. 茶叶中咖啡碱的提取研究进展[J]. 化学与生物工程, 2010, 27(9): 17–19.
- Zhao WX, Jiang HB, Feng GD. Research progress on theine extraction from tea leaves [J]. Chem Biol Eng, 2010, 27(9): 17–19.
- [38] 徐丹萍, 艾凌艳. 高效液相色谱法测定普洱熟沱茶叶中咖啡因的含量[J]. 海峡药学, 2016, 28(8): 63–66.
- Xu DP, Ai LY. The content of caffeine in puer ripe tuo tea was determined by HPLC [J]. Stait Pharm, 2016, 28(8): 63–66.
- [39] 银霞, 张曙光, 黄静. 湖南红茶特征滋味化学成分研究[J]. 茶叶科学, 2019, 39(2): 150–158.
- Yin X, Zhang SG, Huang J. Study on characteristics and taste chemical composition of hunan black tea [J]. Tea Sci, 2019, 39(2): 150–158.
- [40] 敬永升, 王蕊. HPLC 法测定红茶中茶氨酸的含量[J]. 河南大学学报(医学版), 2018, 37(4): 247–249.
- Jing YS, Wang R. Determination of theanine in black tea by HPLC [J]. J Henan Univ (Med Edit), 2018, 37(4): 247–249.
- [41] 范捷, 王秋霜. 红茶品质及其相关生化因子研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(6): 1–13.
- Fan J, Wang QS. Research progress on black tea quality and related biochemical factors [J]. Food Sci, 2019, 40(6): 1–13.
- [42] 段静, 李硕. 在线柱前衍生高效液相色谱法测定古树红茶中的 γ -氨基丁酸[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(15): 4038–4042.
- Duan J, Li S. Determination of gamma-aminobutyric acid (gamma-aminobutyric acid) in gushu black teaby high performance liquid chromatography (HPLC) [J] J Food Saf Qual, 2018, 9(15): 4038–4042.
- [43] 黄姝娜. 高效液相色谱法测定黑茶中咖啡因含量分析[J]. 食品安全导刊, 2018, (33): 70–72.
- Huang YN. Determination of caffeine in black tea by HPLC [J]. Food Saf Guide, 2018, (33): 70–72.
- [44] 陈娟, 刁玉华, 肖丽恒. 高效液相色谱法测定云南小粒咖啡豆中咖啡因的含量[J]. 科技创新导报, 2017, 14(19): 126–127.
- Chen X, Diao YH, Xiao LH. Determination of caffeine in small coffee beans in yunnan by HPLC [J]. Sci Technol Innov Guide, 2017, 14(19): 126–127.
- [45] 罗健, 蓝红梅. 薄层扫描法测定茶叶中咖啡碱含量[J]. 广东药学院学报, 1995, (3): 183–184.
- Luo J, Lan HM. Determination of theine in tea by TLC scanning [J]. J Guangdong Univ Pharm, 1995, (3): 183–184.
- [46] 张凤, 迟逸仙, 张景如, 等. 茶叶中咖啡因含量的薄层色谱扫描测定方法的建立[J]. 食品科技, 2011, 36(2): 265–269.
- Zhang F, Chi YX, Zhang JR, *et al.* Establishment of scanning method for determination of caffeine in tea by TLC [J]. Food Sci Technol, 2011, 36(2): 265–269.
- [47] Ligor M, Kornysova O, Maruska A, *et al.* Determination of flavonoids in tea and rooibos extracts by TLC and HPLC [J]. J Planar Chromatogr Mod TLC, 2008, 21(5): 355–360.
- [48] Romera-Torres A, Romero-González R, Martínez VJL, *et al.* Simultaneous analysis of tropane alkaloids in teas and herbal teas by liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (Orbitrap) [J]. J Separation Sci, 2018, 41(9).
- [49] Zhu XL, Chen B, Ma M, *et al.* Simultaneous analysis of theanine, chlorogenic acid, purine alkaloids and catechins in tea samples with the help of multi-dimension information of on-line high performance liquid chromatography/electrospray-mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2004, 34(3): 695–704.
- [50] Magdalena JS, Agnieszka ZG, Robert F. Cistus incanus a promising herbal tea rich in bioactive compounds: LC-MS/MS determination of catechins, flavonols, phenolic acids and alkaloids—A comparison with *Camellia sinensis*, *Rooibos* and *Hoan Ngoc herbal tea* [J]. J Food Compos Anal, 2018, (74): 71–81.
- [51] Jesús MS, Roberto RG, Antonia GF. Effect of tea making and boiling processes on the degradation of tropane alkaloids in tea and pasta samples contaminated with *Solanaceae* seeds and coca leaf [J]. Food Chem, 2019, 287(30): 265–272.
- [52] 张哈. 三种天然产物中生物碱类化合物的液质联用分析[D]. 上海: 东华大学, 2013.
- Zhang H. Analysis of alkaloid compounds in three natural products by combination of liquid and mass [D]. Shanghai: Donghua University, 2013.
- [53] 王丽丽, 陈健, 宋振硕, 等. 茶叶中没食子酸、儿茶素类和生物碱的 HPLC 检测方法研究[J]. 福建农业学报, 2014, 29(10): 987–994.
- Wang LL, Chen J, Song ZS, *et al.* Determination of gallic acid catechins and alkaloids in tea by HPLC [J]. J Fujian Agric Sci, 2014, 29(10): 987–994.
- [54] Hideki H, Toshihiro M, Katsunori K. Simultaneous determination of qualitative important components in green tea infusions using capillary electrophoresis [J]. J Chromatogr, 1997, 758(2): 332–335.
- [55] Acre L. Determination of anti-carcinogenic polyphenols present in green tea using capillary electrophoresis coupled to a flow injection system [J]. J Chromatogr, 1998, 827(1): 113–120.
- [56] Chen G, Chu QG, Zhang LY. Separation of six purine bases by capillary electrophoresis with electrochemical detection [J]. Anal Chimica Acta, 2002, 457(2): 225–233.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



田晓静, 博士, 副教授. 主要研究方向为食品、农产品品质检测研究.
E-mail: smile_tian@yeah.net



郑美慧, 主要研究方向为食品科学与工程.
E-mail: 1607367935@qq.com