

茶叶中多种功能成分含量测定与分析研究

王 丽^{1,2}, 林 昕^{1,3}, 汪禄祥^{1,2*}, 邵金良^{1,2}, 陈兴连^{1,2}, 刘宏程^{1,3}, 梅文泉^{1,2}

(1. 云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所, 昆明 650223; 2. 农业部农产品质量监督检验测试中心, 昆明 650223; 3. 农业部农产品质量安全风险评估实验室, 昆明 650223)

摘 要: 目的 建立高效液相色谱法同时测定茶叶中 20 种功能成分(儿茶素、表儿茶素、没食子儿茶素、表没食子儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、芦丁、槲皮素、山奈酚、金丝桃苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷、没食子酸、对羟基苯丙酸、咖啡碱、茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-双没食子酸)含量, 并比较分析不同种类茶叶中功能成分差异情况。**方法** 茶叶样品经 80% 甲醇水溶液超声辅助提取后离心, 采用 Waters C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm), 以乙腈-0.5% 乙酸为流动相进行梯度洗脱, 流速 0.7 mL/min, 紫外检测器于 270 nm 和 360 nm 双波长进行目标化合物的检测。并分析不同加工工艺茶叶中 20 种功能成分的差异。**结果** 20 种分析化合物在 0.05~200 mg/L 浓度范围内线性关系良好($r>0.999$), 加标回收率为 82.29%~117.37%, 相对标准偏差均小于 7.99%, 20 种化合物的检出限为 0.007~0.15 mg/L, 定量限为 0.02~0.45 mg/L。茶叶实际样品分析结果表明不同加工工艺的茶叶中 20 种成分含量和总含量差异较大。**结论** 该方法分析快速简便、稳定和重复性好, 可用于茶叶中 20 种化合物同时测定和定量分析。本研究可为茶叶功能成分的开发利用和品质评价提供参考依据。

关键词: 茶叶; 功能成分; 高效液相色谱; 紫外双波长

Determination and analysis of multifunctional components in tea

WANG Li^{1,2}, LIN Xin^{1,3}, WANG Lu-Xiang^{1,2*}, SHAO Jin-Liang^{1,2}, CHEN Xing-Lian^{1,2},
LIU Hong-Cheng^{1,3}, MEI Wen-Quan^{1,2}

(1. Institute of Agriculture Quality Standards & Testing Technique, Yunnan Academy of Agricultural Science, Kunming 650223, China; 2. Supervision & Testing Center for Farm Products Quality, Ministry of Agriculture, Kunming 650223, China; 3. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-Products, Ministry of Agriculture, Kunming 650223, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of 20 functional components (gallic acid, epigallocatechin, catechin, epicatechin, epigallocatechin gallate, gallic acid gallate, epicatechin gallate, rutin, hyperoside, kaempferol-3-O-rutinoside, quercetin, apigenin, kaempferol, gallic acid, p-hydroxybenzoic acid, caffeine, theaflavin, theaflavin-3-gallate, theaflavin-3'-gallate, theaflavin-3,3'-gallate) in the tea by

基金项目: 云南省科技计划青年基金项目(2017FD203)、云南省科技惠民专项(农业)重点项目(2014RA054)、云南省农业科学院农产品质量与食品安全省创新团队项目(2015HC025)

Fund: Supported by Yunnan Sciences and Technology Project Youth Fund Project (2017FD203), Yunnan Benefit S&T Program (2014RA054), Yunnan Academy of Agricultural Sciences Agricultural Quality and Food Safety Provincial Innovation Team (2015HC025)

***通讯作者:** 汪禄祥, 硕士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量与安全。E-mail: wangluxiang@sina.com

***Corresponding author:** WANG Lu-Xiang, Master, Researcher, Institute of Agriculture Quality standards & Testing Technique, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China. E-mail: wangluxiang@sina.com

high performance liquid chromatography (HPLC), and compare the difference of functional components in tea from different processed technology. **Methods** After ultrasonic assisted extraction with 80% methanol solution, the tea samples were separated by Waters C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5.0 μm) for gradient elution using acetonitrile-0.5% acetic acid as the mobile phase with a flow rate of 0.7 mL/min. The target compound was detected by ultraviolet detector at 270 nm and 360 nm dual wavelength. The difference of 20 functional components in different processing techniques was also analyzed. **Results** The 20 compounds had a good linear relationship within the concentration range of 0.05–200 mg/L ($r>0.999$). The standard recoveries were 82.29%–117.37%, and the relative standard deviations were less than 7.99%. The limits of detection of 20 compounds were 0.007–0.15 mg/L, and the limits of quantitative were 0.02–0.45 mg/L. The actual sample analysis results of tea showed that the content and total content of 20 components in tea with different processing techniques was quite different. **Conclusion** This method is quick, simple, stable, reproducible, and can be used for the determination of 20 functional components content in the tea, which can provide reference for the development and utilization of functional components and the evaluation of tea quality.

KEY WORDS: tea; functional components; high performance liquid chromatography; double ultraviolet dual wavelength

1 引言

茶(*Camellia sinensis*)在世界上消费广泛,是全球饮用量仅次于水的第 2 大非酒精饮料,中国是茶叶的原产地和茶文化的发源地^[1]。茶叶被公认为绿色健康饮品,深受广大消费者的青睐喜爱,各种研究表明,经常饮茶有利于身体健康,对降血压、降血糖、抗衰老、助消化、缓解疲劳等方面都有特殊功效^[2-5]。茶叶中富含茶多酚、生物碱、有机酸、多糖、茶色素、氨基酸类及皂苷等天然功能生物活性物质,一般源自其二次代谢产物^[6]。茶多酚是其中重要的一类生物活性成分,也是茶叶药理功能的主要活性成分,儿茶素类化合物是茶叶多酚中最主要的成分^[7-9]。茶色素是一类以儿茶素为主的茶多酚类化合物经酶促氧化或非酶促氧化的植物酚性色素,在茶叶中水溶性色素具有较高的功能性和研究价值,茶黄素类为茶色素的重要组成,茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯和茶黄素-3,3'-双没食子酸酯为四种主要成分^[10]。有研究表明,茶色素的药理作用要高于儿茶素类,也是茶叶中的重要药理成分之一,茶黄素能够直接清除人体内的自由基,还能够通过调节体内生物酶系活性以及与金属离子络合等途径来实现其抗氧化的功能^[10]。同时茶多酚类、咖啡碱、有机酸及茶色素等化合物含量与茶叶品质密切相关,不仅是茶叶茶汤中主要的滋味物质,也是构成茶汤色泽的重要因子,是茶叶质量分析的重要评价指标^[11]。

目前,对茶叶中茶多酚、茶色素等功能成分的研究多集中在总含量对比分析研究,多数采用分光光度法等测定

方法^[12-14],普遍性的问题就是不能准确地测定各种功能成分的单体,只能测定总量,无法满足产品品质评价要求和越来越严格的分析发展趋势。高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)可以实现不同化合物的有效分离,用于各种功能单体的分析,且同时具有易操作、稳定性好、灵敏度高及应用成本相对较低等优点,更适合应用于茶叶中不同功能成分单体的有效分离及含量分析测定。有文献报道采用 HPLC 法测定茶叶及制品中儿茶素类和黄酮等功能物质^[15-18],但目前研究报道中同时测定茶叶中功能组分种类和数量都相对较少,不能准确全面反映茶叶内部特征。

我国茶叶种类多,茶叶中功能活性成分的含量与不同种类茶的加工工艺密切相关,而与之相关的报道不多。准确全面的对茶叶中有效成分的分析检测,对茶叶鉴定、品质评价及茶产品开发等方面具有重要的意义。本研究旨在建立一种基于高效液相色谱法检测分析茶叶中不同类型功能成分的方法,结合双波长检测技术,同时快速测定茶叶中儿茶素类、黄酮醇、黄酮醇苷类、有机酸、咖啡碱及茶色素类的 20 种功能成分含量,并利用该方法对不同加工工艺茶叶中的不同类型功能成分的含量分布作初步探讨研究,拟为茶叶的功能成分物质组成的进一步研究及质量控制标准的制定提供科学理论依据。

2 材料与方法

2.1 仪器、试剂与材料

Waters Alliance e2695-2998 高效液相色谱仪-二极管阵列检测器、Empower 3 数据工作站(美国 Waters 公司); KQ-500DB 超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);

TGL-10B-6D 高速离心机(上海安亭科学仪器厂); JJ200 电子分析天平(江苏省常熟市双杰测试仪器厂); MILLI-Q 纯水机(美国 Millipore 公司)。

对照品: 儿茶素类: 儿茶素、表儿茶素、没食子儿茶素、表没食子儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯; 黄酮醇及黄酮醇苷类: 芦丁、槲皮素、山奈酚、金丝桃苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷; 有机酸类: 没食子酸、对羟基苯丙酸; 咖啡碱; 茶黄素类: 茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-双没食子酸(纯度 $\geq 98.0\%$, 成都曼思特生物科技有限公司); 乙腈、甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 磷酸、乙酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

茶叶样品: 供试的茶叶样品均购自昆明市茶叶市场, 粉碎后过 40 目筛, 并放置在相同环境条件下储藏备用。

2.2 实验方法

2.2.1 高效液相色谱条件

色谱柱为 Waters C₁₈ 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5.0 μ m); 柱温 30.0 $^{\circ}$ C; 进样体积 10.0 μ L; 流动相 A 为乙腈, 流动相 B 为 0.5% 乙酸水溶液, 梯度洗脱程序为 0~20 min, 2%~15% A; 20~35 min, 15%~20% A; 35~45 min, 20%~30% A; 45~50 min, 30%~45% A; 50~60 min, 45% A; 60 min 后回到初始状态 2% A; 流速 0.7 mL/min; 紫外双波长检测, 检测波长分别为 270 nm 和 360 nm。

2.2.2 对照品溶液的配制

分别精密称取儿茶素、表儿茶素、没食子儿茶素、表没食子儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、芦丁、槲皮素、山奈酚、金丝桃苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷、没食子酸、对羟基苯丙酸、咖啡碱、茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-双没食子酸各对照品 10 mg, 各用甲醇溶解并定容至于 10 mL, 摇匀得到单一对照品储备溶液, 再准确吸取上述各对照品于容量瓶中并用甲醇定容, 得到 20 种混合对照品溶液, 低温避光保存备用。

2.2.3 茶叶样品前处理

精密称取 1.0 g 样品置于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 80% 甲醇水溶液, 超声处理 30 min, 以 5000 r/min 离心 5 min, 移取上层清液到 25 mL 容量瓶中, 离心管内再加入 10 mL 80% 甲醇水溶液复提, 合并上清液并定容到 25 mL, 吸取 1 mL 上清液经 0.22 μ m 有机相滤膜过滤, 待上机测定。

3 结果与分析

3.1 色谱条件的优化

3.1.1 流动相的优化

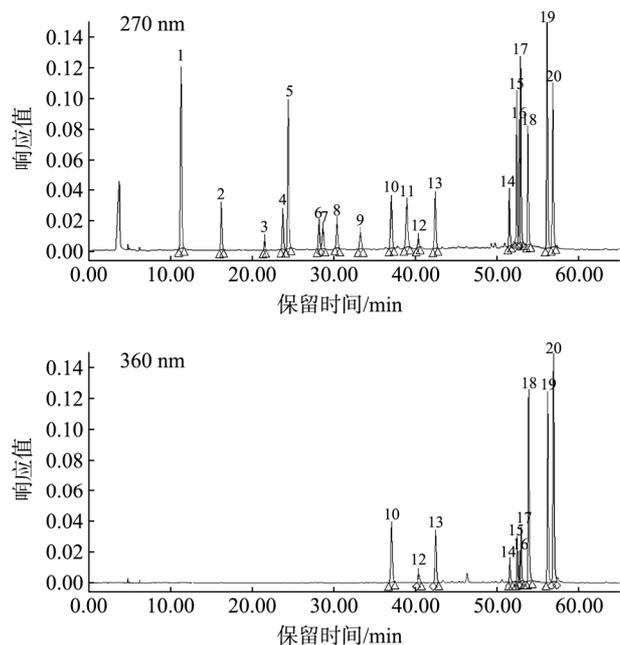
因分析目标物茶多酚及茶黄素等化合物分子结构特

点都含有多个酚羟基, 极性相对较大, 在流动相中添加适当浓度的酸性成分, 能够有改善峰形和防止拖尾, 稳定化合物性质的作用^[19]。目前分析茶多酚、咖啡碱及茶黄素类等物质的流动相多采用乙腈-磷酸溶液、乙腈-乙酸溶液、甲醇-乙酸溶液和甲醇-磷酸溶液等^[12]。结果表明: 当采用甲醇-磷酸溶液和甲醇-乙酸溶液作为流动相时, 流动相中甲醇的比例对部分目标物保留行为影响很大, 大部分目标物出峰时间较晚, 同时峰形变差, 分析时间延长; 当采用乙腈-磷酸溶液作为流动相时, 20 种目标化合物中大部分色谱峰分离效果良好, 但是儿茶素和咖啡碱的分离效果不理想, 变换不同流动相梯度也很难实现完全分离; 采用乙腈-乙酸溶液作为流动相时, 20 种分析化合物分离度良好, 能达到分离要求, 同时在该色谱条件下, 实际样品中目标化合物与周围其他杂质干扰峰分离度良好; 同时本实验进一步比较乙腈-0.10% 乙酸溶液、乙腈-0.50% 乙酸溶液和乙腈-1.0% 乙酸溶液对 20 种化合物色谱分离行为的影响, 结果表明, 改变流动相的 pH 值对 20 种化合物的相对保留时间影响较小。综合考虑各被测目标化合物的分离效果及色谱峰峰形, 最终确定采用乙腈-0.50% 乙酸溶液为本实验流动相, 结合优化的最终梯度洗脱程序, 能够实现 20 种分析化合物有效分离, 同时色谱峰形好对称性佳, 基线相对平稳, 20 种化合物标准溶液色谱图见图 1。

3.1.2 检测波长的选择优化

本实验利用二极管阵列检测器对 20 种化合物标准样品进行最大吸收光谱扫描, 得到不同组分的最大吸收光谱图, 儿茶素类 7 种多酚化合物、没食子酸在 230 nm 和 270 nm 左右有最大吸收峰; 咖啡碱、对羟基苯丙酸、茶黄素类 4 种化合物(茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-双没食子酸)在 270 nm 左右有最大吸收峰; 黄酮醇及黄酮醇苷类化合物(芦丁、槲皮素、山奈酚、金丝桃苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷、芹菜素)在 270 nm 和 360 nm 处均有吸收峰, 但在 360 nm 处为最大吸收峰, 同时在 360 nm 条件下儿茶素类化合物无吸收峰, 对黄酮醇、黄酮苷类物质无干扰; 由于在 230 nm 处茶叶中干扰物质杂峰较多, 综合考虑检测灵敏度本实验选择双波长进行检测, 即 270 nm 和 360 nm。确定 270 nm 作为测定儿茶素、表儿茶素、没食子儿茶素、表没食子儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、没食子酸、对羟基苯丙酸、咖啡碱、茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-双没食子酸的第 1 检测波长; 360 nm 作为测定芦丁、槲皮素、山奈酚、金丝桃苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷、芹菜素的第 2 检测定量波长, 检测灵敏度足以达到分析要求。紫外多波长检测技术保证各组分的含量差别和检测灵敏度, 在此条件下能有效分离各类化合物并互不干扰, 实现同一色谱条件下不同

性质化合物的同时测定和准确定量,同时本实验借助二极管阵列检测器进行辅助定性。



注: 1、没食子酸; 2、没食子儿茶素; 3、表没食子儿茶素; 4、儿茶素; 5、咖啡碱; 6、表儿茶素; 7、表没食子儿茶素没食子酸酯; 8、没食子儿茶素没食子酸酯; 9、对羟基苯丙酸; 10、芦丁; 11、表儿茶素没食子酸酯; 12、金丝桃苷; 13、山奈酚-3-O-芸香糖苷; 14、茶黄素; 15、茶黄素-3-没食子酸酯; 16、茶黄素-3,3'-双没食子酸; 17、茶黄素-3'-没食子酸; 18、槲皮素; 19、芹菜素; 20、山奈酚。以下编号同。

图1 20种化合物标准溶液色谱图

Fig.1 Chromatograms of 20 kinds of compound standards

3.2 提取条件优化

3.2.1 提取溶剂的选择

茶叶中多酚和茶色素等化合物多为极性化合物,在极性溶剂中具有较大的溶解度,采用高质量分数的醇、醇水混合溶液或其他有极性有机溶液作为提取剂,一般能有效地提取植物组织中更多游离态的类多酚等成分^[19]。所以本实验选择了极性比较大的甲醇水溶液为提取溶剂,同时考察对比了不同体积分数(50%, 60%, 70%, 80%, 90%、100%)的甲醇水溶液作为提取液时对总目标物的提取效率。综合对比发现随甲醇浓度的增加,提取效率呈现先升高后降低的变化趋势,80%~90%甲醇水溶液时提取效率最高为4.63%,为节约成本和保证提取效率等,综合考虑选择80%甲醇水溶液为本实验提取溶剂。

3.2.2 提取方法的选择

对于茶叶多酚等物质的提取方法,本实验主要考察对比了振荡浸取法、超声波浸取法及浸泡过夜法。1)振荡浸取法:称取1.0 g茶叶样品,置于50 mL离心管中,加入

10 mL 80%甲醇水溶液,室温条件下振荡提取30 min,离心后取上清液转入25 mL容量瓶中,茶叶残渣再用10 mL 80%甲醇水溶液复提取1次,合并2次提取上清液,用80%甲醇水溶液定容至25 mL,过0.22 μm滤膜,待测。2)超声波浸取法:称取1.0 g茶叶样品,置于50 mL离心管中,加入10 mL 80%甲醇水溶液,超声(功率200 W、频率40 kHz)提取30 min,离心后取上清液转移定容于25 mL容量瓶中;继续加入10 mL 80%甲醇水溶液到茶叶残渣离心管中,超声(功率200 W、频率40 kHz)提取30 min,合并上清液定容到25 mL容量瓶中,过0.22 μm滤膜,待测。3)浸泡过夜法:称取1.0 g茶叶样品,置于50 mL离心管中,加入25 mL 80%甲醇水溶液提取,室温条件下浸泡24 h后,过0.22 μm滤膜,待测。上述实验结果如图2所示,可以看出超声辅助提取效率相对最高,同时对超声时间进行优化,超声40 min以后提取效率没有明显提高,最终选择本实验的超声提取时间为40 min。

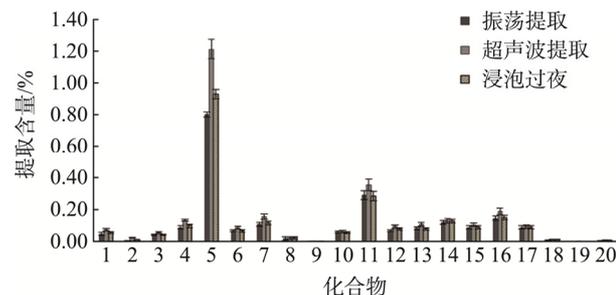


图2 提取方法对20种化合物提取的影响(n=3)

Fig.2 Effects of extraction method on the extraction efficiency of 20 kinds of compounds (n=3)

3.3 线性范围、检出限和定量限测定结果

3.3.1 线性关系考察及检出限、定量限测定

用甲醇将配制的对照品储备溶液逐级稀释,分别配制成质量浓度为200、100、50、20.0、10.0、5.0、2.0、1.0、0.5、0.2、0.1、0.05 mg/L的系列标准溶液。按上述已建立的最优色谱条件进样分析,以各目标化合物峰面积(Y)对浓度(X)进行回归分析绘制标准曲线,将混合对照品储备液逐步稀释,并以3倍信噪比估算检出限和10倍信噪比估算定量限,方法的线性方程、相关系数、检出限和定量限见表1,该方法线性良好,相关系数(r)均大于0.999,满足检测的要求,20种化合物的检出限在0.007~0.126 mg/L,定量限在0.02~0.45 mg/L。

3.3.2 加标回收与精密度试验

精密称取同一份已知20种成分含量的茶叶样品,分别定量添加低、高2个浓度混合标准溶液,并按照2.2.3项的方法进行样品前处理,按上述方法的色谱条件进行测定,各化合物的回收率和相对标准偏差结果见表2,可知10 mg/kg和50 mg/kg 2个添加水平的平均回收率为

82.29%~117.37%(每个添加浓度平行测定 6 次), 相对标准偏差均小于 7.99%。

3.4 实际茶叶样品的测定

按上述前处理和色谱条件对实际收集的茶叶样品中

功能成分进行分析检测, 茶叶样品包含生普洱茶、熟普洱茶、绿茶、红茶样品, 每种类型的茶叶各 3 个不同样品, 每个样品重复测定 2 次, 数据结果见表 3, 实际茶叶样品色谱图见图 3。

表 1 20 种茶叶中化合物标准曲线的线性方程、相关系数、检出限和定量限
Table 1 Regression equations, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantification of 20 compounds

分析物	线性方程	相关系数(<i>r</i>)	检出限/(mg/L)	定量限/(mg/L)
没食子酸	$Y=4.63 \times 10^3 X+1.6 \times 10^4$	0.9998	0.007	0.02
没食子儿茶素	$Y=1.11 \times 10^3 X+1.75 \times 10^3$	0.9997	0.043	0.14
表没食子儿茶素	$Y=3.03 \times 10^2 X+6.54 \times 10^2$	0.9990	0.126	0.45
儿茶素	$Y=7.83 \times 10^2 X+3.54 \times 10^3$	0.9997	0.051	0.16
咖啡碱	$Y=3.55 \times 10^3 X+1.40 \times 10^4$	0.9998	0.010	0.04
表儿茶素	$Y=6.21 \times 10^2 X+3.03 \times 10^3$	0.9993	0.071	0.24
表没食子儿茶素没食子酸酯	$Y=6.65 \times 10^2 X-9.46 \times 10^2$	0.9997	0.070	0.22
没食子儿茶素没食子酸酯	$Y=8.74 \times 10^2 X-2.00 \times 10^3$	0.9995	0.061	0.20
对羟基苯丙酸	$Y=6.01 \times 10^2 X+1.81 \times 10^3$	0.9992	0.075	0.25
芦丁	$Y=1.46 \times 10^3 X+6.04 \times 10^3$	0.9997	0.035	0.10
表儿茶素没食子酸酯	$Y=1.64 \times 10^3 X+1.23 \times 10^3$	0.9998	0.035	0.10
金丝桃苷	$Y=3.66 \times 10^2 X+1.42 \times 10^3$	0.9995	0.095	0.30
山奈酚-3-O-芸香糖苷	$Y=1.43 \times 10^3 X+6.08 \times 10^3$	0.9997	0.028	0.09
茶黄素	$Y=4.67 \times 10^3 X-1.51 \times 10^3$	0.9998	0.035	0.10
茶黄素-3-没食子酸酯	$Y=1.10 \times 10^3 X-5.72 \times 10^3$	0.9993	0.02	0.07
茶黄素-3, 3'-双没食子酸	$Y=2.48 \times 10^3 X+4.19 \times 10^2$	0.9991	0.025	0.08
茶黄素-3'-没食子酸	$Y=5.04 \times 10^3 X-7.55 \times 10^3$	0.9995	0.01	0.04
槲皮素	$Y=2.16 \times 10^3 X-3.44 \times 10^3$	0.9998	0.01	0.04
芹菜素	$Y=4.50 \times 10^3 X+1.63 \times 10^4$	0.9998	0.15	0.05
山奈酚	$Y=3.39 \times 10^3 X-5.39 \times 10^3$	0.9997	0.15	0.05

表 2 茶叶中 20 种化合物的平均回收率和相对标准偏差(*n*=6)
Table 2 Average recoveries and relative standard deviation of 20 components in tea (*n*=6)

分析物	添加量/(mg/kg)		测得量/(mg/kg)		回收率/%		相对标准偏差/%	
没食子酸	10	50	11.29	56.44	112.87	103.23	6.59	4.22
没食子儿茶素	10	50	9.27	46.33	92.66	112.72	6.25	7.32
表没食子儿茶素	10	50	10.73	53.63	107.25	98.5	3.15	3.42
儿茶素	10	50	9.26	46.31	92.61	89.67	5.67	4.3
咖啡碱	10	50	11.55	57.73	115.46	104.28	7.56	4.15
表儿茶素	10	50	8.92	44.58	89.15	94.05	7.99	3.02
表没食子儿茶素没食子酸酯	10	50	8.97	44.86	89.71	95.09	3.43	2.27
没食子儿茶素没食子酸酯	10	50	9.48	47.42	94.83	86.73	6.27	4.13

续表 2

分析物	添加量/(mg/kg)		测得量/(mg/kg)		回收率/%		相对标准偏差/%	
对羟基苯丙酸	10	50	11.74	58.69	117.37	105.69	7.04	2.02
芦丁	10	50	9.36	46.78	93.55	108.46	4.28	5.13
表儿茶素没食子酸酯	10	50	8.23	41.15	82.29	91.76	2.32	3.51
金丝桃苷	10	50	8.48	42.41	84.82	92.61	5.03	2.39
山奈酚-3-O-芸香糖苷	10	50	11.10	55.48	110.96	97.15	7.13	1.99
茶黄素	10	50	9.25	46.27	92.53	103.67	3.36	1.8
茶黄素-3-没食子酸酯	10	50	8.96	44.82	89.64	92.11	5.24	2.39
茶黄素-3,3'-双没食子酸	10	50	10.68	53.41	106.82	96.42	7.06	3
茶黄素-3'-没食子酸酯	10	50	10.36	51.82	103.63	106.25	1.9	2.96
槲皮素	10	50	8.97	44.85	89.69	96.51	4.57	3.09
芹菜素	10	50	10.56	52.81	105.62	94.74	2.01	2.77
山奈酚	10	50	8.68	43.42	86.83	93.66	5.68	4.87

注: 表 2 测得量为实际测定值减去样品空白含量的值。

表 3 供试茶样品中 20 种成分的平均含量
Table 3 Mean content of 20 kinds of components in tea samples

分析物	生普洱茶/(mg/g)	熟普洱茶/(mg/g)	绿茶/(mg/g)	红茶/(mg/g)
没食子酸	0.724±0.064	3.62±0.64	0.250±0.040	0.752±0.141
没食子儿茶素	1.28±0.01	0.188±0.034	1.45±0.05	0.426±0.146
表没食子儿茶素	22.78±0.48	1.89±0.30	33.76±2.94	1.020±0.294
儿茶素	12.45±0.62	0.366±0.045	6.86±1.00	1.309±0.106
咖啡碱	15.56±0.17	14.78±0.26	16.03±0.62	16.64±1.98
表儿茶素	9.02±0.41	1.06±0.29	11.28±1.09	0.921±0.057
表没食子儿茶素没食子酸酯	65.17±2.33	0.814±0.350	84.57±9.05	2.62±0.63
没食子儿茶素没食子酸酯	0.659±0.194	0.242±0.130	0.913±0.002	0.190±0.049
对羟基苯丙酸	0.445±0.030	0.066±0.002	0.627±0.020	0.056±0.007
芦丁	1.54±0.24	0.313±0.031	1.63±0.12	0.710±0.197
表儿茶素没食子酸酯	26.98±2.13	0.504±0.171	31.24±0.94	4.35±1.26
金丝桃苷	0.652±0.124	0.105±0.048	0.936±0.280	0.923±0.035
山奈酚-3-O-芸香糖苷	0.921±0.072	0.161±0.028	1.36±0.40	0.861±0.034
茶黄素	0.103±0.003	0.027±0.005	0.241±0.039	1.89±0.03
茶黄素-3-没食子酸酯	0.091±0.026	0.024±0.005	0.091±0.019	0.841±0.157
茶黄素-3,3'-双没食子酸	0.075±0.006	0.007±0.007	0.080±0.002	1.87±0.40
茶黄素-3'-没食子酸酯	0.100±0.007	0.022±0.008	0.103±0.004	0.936±0.024
槲皮素	0.007±0.002	0.190±0.021	0.015±0.004	0.176±0.016
芹菜素	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
山奈酚	0.005±0.001	0.041±0.001	0.004±0.001	0.013±0.002
总物质含量	158.55±7.17	24.42±3.37	191.42±16.62	36.50±5.99

从表 3 可知, 就本实验所收集到的 4 种类型茶叶样品进行分析, 所含 20 种化合物平均含量差异明显, 绿茶中 20 种化合物总含量最高为(191.42±16.62) mg/g, 其次为生普洱茶和红茶, 含量分别为(158.55±7.17) mg/g 和(36.50±5.99) mg/g, 熟普洱茶中总含量最低为(24.42±3.37) mg/g。对于单一功能成分, 4 种茶叶中仅芹菜素没有检出, 其余 19 种目标化合物均有检出, 且含量差异很大。绿茶中儿茶素类化合物(表没食子儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素、表儿茶素没食子酸酯、表儿茶素、没食子儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯)、黄酮醇及苷类化合物(芦丁、金丝桃苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷)和对羟基苯丙酸的含量明显高于其他 3 种茶叶, 含量较高的几种儿茶素类化合物依次为表没食子儿茶素没食子酸酯(84.57±9.05) mg/g、表没食子儿茶素(33.76±2.94) mg/g、表儿茶素没食子酸酯(31.24±0.94) mg/g、表儿茶素(11.28±1.09) mg/g 和没食子儿茶素(1.45±0.05) mg/g。儿茶素在生普洱茶中含量最高含量为(12.45±0.62) mg/g, 没食子酸在熟普洱茶中含量最高(3.62±0.64) mg/g, 黄酮醇类化合物中槲皮素和山奈酚在 4 种茶叶中整体含量相对偏低, 在熟普洱茶含量最高, 含量分别为(0.190±0.021) mg/g 和(0.041±0.001) mg/g。红茶中茶黄素类化合物的含量最高, 其他 3 种茶叶中含量相对较低。咖啡碱在 4 种茶叶中含量差异不大, 含量范围在(15.56±0.17) mg/g~(16.64±1.98) mg/g 之间。

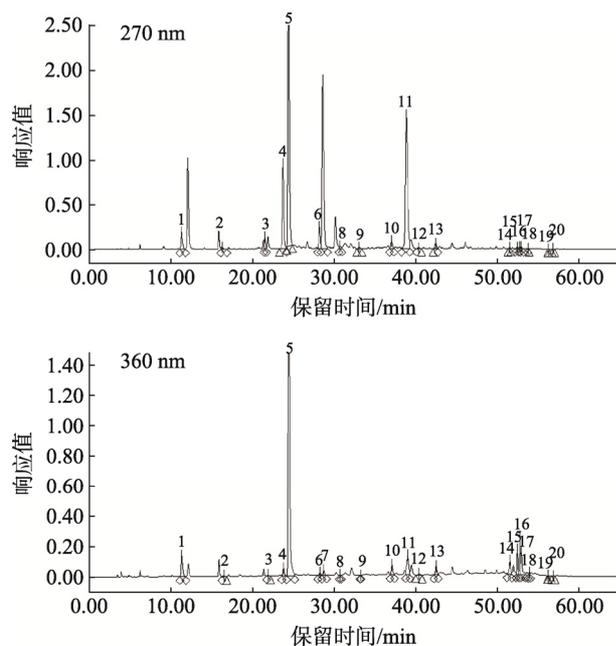


图 3 生普洱茶(A)和红茶样品(B)在 270 nm 的色谱图

Fig.3 Chromatograms of non-fermented pu-erh tea sample(A) and black tea sample(B) at 270 nm

4 结 论

本研究利用高效液相色谱结合双波长检测技术, 建

立了能同时、快速检测茶叶样品中儿茶素、表儿茶素、没食子儿茶素、表没食子儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯芦丁、槲皮素、山奈酚、金丝桃苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷、没食子酸、对羟基苯丙酸; 咖啡碱、茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-双没食子酸 20 种功能成分的分析方法, 实现对茶叶中儿茶素类、黄酮醇、黄酮醇苷类、有机酸、咖啡碱及茶色素类多功能成分的同时分析。经方法学验证该方法简便、快速且回收率及精密度均满足测定要求, 可以用于茶叶样品中 20 种不同组分的快速分析和定量。相较于茶叶总物质含量的测定方法, 本方法可以更加准确分析各种单一功能组分的含量。本实验结果显示, 茶叶样品中含有丰富的各种功能物质, 但是不同加工工艺的茶叶所含功能成分的含量和种类有一定的差异, 所建立的茶叶中功能成分的快速分析测定方法, 旨在为评价茶叶质量品质提供一定的理论依据和检测手段, 为全面深入研究茶叶营养和功能成分提供依据, 促进茶叶产业的健康发展。

参考文献

- [1] 刘淑敏. 不同茶类浸提液及茶多酚的生物活性和机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
Liu SM. Study on the biological activities and functional mechanisms of different tea extracts and tea polyphenols [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016.
- [2] Urdzikova LM, Ruzicka J, Karova K, *et al.* A green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate enhances neuroregeneration after spinal cord injury by altering levels of inflammatory cytokines [J]. *Neuropharmacology*, 2017, (126): 213–223.
- [3] Christiane JD, Edward RF. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea [J]. *J Nutr Biochem*, 2001, 12(7): 404–421.
- [4] Ohno T, Ohtani M, Suto H, *et al.* Effect of green tea catechins on gastric mucosal dysplasia in insulin-gastrin mice [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(6): 3241–3247.
- [5] 王素敏, 徐欢欢, 黄业伟, 等. 茶多酚的降脂作用及其机制研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(10): 219–224.
Wang SM, Xu HH, Huang YW, *et al.* Review on the effect of tea polyphenols in hypolipidemic and its mechanism [J]. *Food Res Dev*, 2016, 37(10): 219–224.
- [6] 宛晓春, 李大祥, 张正竹, 等. 茶叶生物化学研究进展 [J]. *茶叶科学*, 2015, 35(1): 1–10.
Wan XC, Li DX, Zhang ZZ, *et al.* Research advance on tea biochemistry [J]. *Tea Sci*, 2015, 35(1): 1–10.
- [7] 隋世江, 韩京峰, 雋英华. 超声波辅助提取绿茶中茶多酚的方法研究 [J]. *辽宁农业科学*, 2019, (3): 22–25.
Sui SJ, Han JF, Juan YH. Study on the assisted extraction of tea polyphenols in green tea by ultrasonic wave [J]. *Liaoning Agric Sci*, 2019, (3): 22–25.
- [8] Peng Z, Xu ZW, Wen WS, *et al.* Tea polyphenols protect against

- irradiation-induced injury in submandibular glands cells: A preliminary study [J]. Arch Oral Biol, 2011, 56(8): 738-743.
- [9] Wang DX, Yan XQ, Wu YQ, *et al.* Up-regulation of the gap junction intercellular communication by tea polyphenol in the human metastatic lung carcinoma cell line [J]. Cancer Therapy, 2012, 3(1): 64-70.
- [10] 陈来茵, 陈荣山, 叶陈英, 等. 茶色素的提取、功效及应用研究进展[J]. 茶叶通讯, 2013, 40(2): 31-35.
Chen LY, Chen RS, Ye CY, *et al.* Research progress on extraction, health function and application of tea pigments [J]. Tea Commun, 2013, 40(2): 31-35.
- [11] 金孝芳. 绿茶滋味化合物研究[D]. 重庆: 西南大学, 2007.
Jin XF. The research on taste compounds of green tea [D]. Chongqing: Southwest University, 2007.
- [12] 张单皓, 张晓寒, 冯叙桥. 茶多酚测定研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(17): 4655-4663.
Zhang SH, Zhang XH, Feng XQ. Technological advances on analysis of tea polyphenols [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(17): 4655-4663.
- [13] 贾有青, 谷晶, 闫书婷. 茶叶中茶多酚含量的测定方法比较[J]. 中国茶叶, 2014, (1): 20-21.
Jia YQ, Gu J, Yan ST. Comparison of methods for determining the content of tea polyphenols in tea [J]. China Tea, 2014, (1): 20-21.
- [14] 高玉萍, 涂云飞, 杨秀芳, 等. 茶多酚制品中多酚含量测定方法比较研究[J]. 中国茶叶加工, 2013, (3): 28-32.
Gao YP, Tu YF, Yang XF, *et al.* Methods comparison of determination the polyphenols content in tea polyphenols products [J]. China Tea Process, 2013, (3): 28-32.
- [15] 张继, 王惠明, 马君义, 等. 高效液相色谱法测定绿茶中茶多酚及咖啡因[J]. 理化检验(化学分册), 2012, 48(3): 312-314.
Zhang J, Wang HM, Ma JY, *et al.* Determination of tea polyphenols and caffeine in green tea by HPLC [J]. Phys Test Chem Anal (Chem Anal), 2012, 48(3): 312-314.
- [16] 付静, 江海, 李新生. 超高效液相色谱法测定绿茶中5种儿茶素[J]. 分析实验室, 2013, (7): 69-74.
Fu J, Jiang H, Li XS. Determination of five kinds of catechins in green tea using ultra high performance liquid chromatograph [J]. Chin J Anal Lab, 2013, (7): 69-74.
- [17] 张爽, 黄梦甜, 焦妍津, 等. 超高效液相色谱-紫外检测器法快速测定茶饮料茶多酚中儿茶素类组成及含量 [J]. 食品科学, 2013, 34(22): 170-173.
Zhang S, Huang MT, Jiao YJ, *et al.* Rapid and high throughput quantitative analysis of catechin polyphenols in tea beverages by ultra-high performance liquid chromatography with photodiode array detection (UPLC-PDA) [J]. Food Sci, 2013, 34(22): 170-173.
- [18] 康明艳, 李悦, 魏文静, 等. 高效液相色谱法测定茶叶中的茶多酚[J]. 食品研究与开发, 2014, (15): 94-95.
Kang MY, Li Y, Wei WJ, *et al.* Determination of tea polyphenols. in tea by high performance liquid chromatography (HPLC) [J]. Food Res Dev, 2014, (15): 94-95.
- [19] 王丽, 邵金良, 魏茂琼, 等. 普洱茶中黄酮类化合物含量的测定方法[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(6): 1410-1415.
Wang L, Shao JL, Wei MQ, *et al.* Method development for the determination of flavonoids in Pu-erh tea by HPLC [J]. Jiangsu J Agric Sci, 2016, 32(6): 1410-1415.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

王 丽, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全与分析检测。
E-mail: wangli5170@126.com

汪禄祥, 硕士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量与安全。
E-mail: wangluxiang@sina.com