

高效液相色谱法定量分析不同工艺安化黑茶中 功能成分的含量

宋 阳*, 廖燕芝

(湖南省食品质量监督检验研究院, 食品安全监测与预警湖南省重点实验室, 长沙 410017)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)同时测定安化黑茶中没食子酸、表没食子儿茶素、儿茶素、表儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸脂、表儿茶素没食子酸脂、咖啡碱、可可碱、茶碱的含量的分析方法, 并比较不同生产工艺的安化黑茶儿茶素类和生物碱类功能成分含量的差异。**方法** 黑茶样品经90 °C恒温水浴浸泡提取后, 采用C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm), 以乙腈-0.1%磷酸为流动相进行梯度洗脱, 流速1.0 mL/min, 二极管阵列检测器270 nm检测。**结果** 在选择的分析条件下, 黑茶样品中的9种组分获得了理想分离, 0.5~100 μg/mL范围内线性关系良好($r \geq 0.9997$), 加标回收率在81.20%~101.20%之间, 相对标准偏差为1.88%~7.61%。不同来源黑毛茶儿茶素类和生物碱类含量成分差异较大, 茯砖茶加工过程中儿茶素类成分变化大。**结论** 该方法操作简单, 精密度、稳定性和重现性良好, 可用于黑茶中功能成分的定量分析, 本研究为安化黑茶的科学拼配、工艺的改进提供了参考依据。

关键词: 高效液相色谱法; 安化黑茶; 儿茶素; 生物碱

Quantitative analysis of functional components in Anhua dark tea by high performance liquid chromatography

SONG Yang*, LIAO Yan-Zhi

(Hunan Institute of Food Supervision Inspection and Research, Hunan Provincial Key Laboratory of Food Safety Monitoring and Early Warning, Changsha 410017, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of the content of gallic acid, epigallocatechin, catechin, epicatechin, epigallocatechin gallate, epicatechin gallate, caffeine, theobromine and theophylline in Anhua dark tea by high performance liquid chromatography, and to compare the differences of the content of catechins and alkaloids in Anhua dark tea produced by different production processes. **Methods** The dark tea samples were extracted by soaking in a constant temperature water bath at 90 °C. The samples were eluted using a C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5.0 μm) with acetonitrile-0.1% phosphoric acid as the mobile phase in a gradient manner at a flow rate of 1.0 mL/min, and detected by a diode array detector at 270 nm. **Results** Under the selected analytical conditions, the ideal separation was obtained for the 9 kinds of components in the dark tea sample. The linear relationship was good ($r \geq 0.9997$) within the range of 0.5–100 μg/mL, and the spiked recoveries were

基金项目: 湖南省科技创新计划重点研发计划项目(2018NK2034)

Fund: Supported by the Key R & D Project of Hunan Science and Technology Innovation Plan (2018NK2034)

*通信作者: 宋阳, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全质量分析。E-mail: 233019000@qq.com

*Corresponding author: SONG Yang, Master, Engineer, Hunan Institute of Food Supervision Inspection and Research, No.238, Times Sunshine Road, Changsha 410017, China. E-mail: 233019000@qq.com

within the range of 81.20%–101.20%, with the relative standard deviations of 1.88%–7.61%. The content and components of catechins and alkaloids in raw dark green tea from different sources varied significantly, and the content and components of catechins changed significantly during the processing of Fuzhuan brick tea. **Conclusion** This method is simple, accurate, stable and reproducible, and can be used for quantitative analysis of functional components in dark tea. This study provides a reference for scientific blending and process improvement of Anhua dark tea.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; Anhua dark tea; catechin; alkaloid

0 引言

黑茶是以茶树鲜叶或成熟新梢为原料,经杀青、揉捻、渥堆、干燥等加工工艺制成的茶产品,是一种后发酵茶^[1]。由于原料来源和加工工艺不同,黑茶的风味和品质存在差异。黑茶香气优雅醇正,滋味甘甜醇厚,内含物质丰富,具有降血糖、降血压、抗氧化、保健等功能^[2]。安化黑茶是以在特定区域内生长的安化云台山大叶种、楮叶齐等茶树品种鲜叶为原料,按照特定加工工艺生产黑毛茶,再以黑毛茶为原料,采用筛分、压制成型、发花、干燥、陈放等特定加工工艺生产具有独特品质特征的黑茶^[3-4]。安化黑茶根据工艺的不同可分为花砖、千两茶、茯砖、黑砖、贡尖、天尖和生尖^[5]。

茶多酚和生物碱是影响黑茶品质的重要指标之一,它与黑茶的汤色、耐泡程度、滋味等因子密切相关^[6]。茶多酚含量是衡量黑茶品质的重要指标之一,黑茶的后发酵工艺对茶多酚含量的变化影响较大。儿茶素类化合物是黑茶中含量较丰富的一类有效成分,占茶多酚总量的 70%以上,是影响茶叶苦涩味的主要成分之一^[7-8]。儿茶素主要包括没食子酸、表没食子儿茶素、儿茶素、表儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸脂、表儿茶素没食子酸脂。茶叶中生物碱以咖啡碱、可可碱、茶碱为主,其中咖啡碱含量最多。黑茶茶汤的苦味主要来自咖啡碱、可可碱、茶碱等生物碱,它影响着黑茶的风味和品质^[9-10]。

目前应用于茶叶儿茶素、生物碱等功能成分检测研究的方法有分光光度法、高效液相色谱法、近红外光谱分析法、液相色谱-串联质谱法等^[11-13]。对黑茶中功能成分的研究主要以总含量变化和分布、渥堆过程功能成分变化为主^[14-16]。对从黑毛茶到成品茶功能成分变化的研究较少,且不能精准地测定各种功能成分的单体,无法满足产品品质评价要求^[17-18]。

本研究选择安化县钩泽源、天子山 2 个茶园,安化大叶、福鼎大白 2 个品种的茶叶,以相同的工艺制作成黑毛茶,再分别加工成湘尖茶、茯砖茶、黑砖茶、花砖茶和百两茶作为研究对象,建立一种基于高效液相色谱法检测分析黑茶中不同类型水溶性功能成分的方法,同时测定黑茶中儿茶素类、生物碱等水溶性功能成分含量,并利用该方

法探讨不同加工工艺的黑茶品种中的不同类型功能成分的含量分布和变化,拟为黑茶功能成分物质组成的进一步研究和安化黑茶的科学拼配、工艺的改进提供参考依据,更好地将安化茶叶资源优势转化为产业优势和品质优势。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

原料:黑毛茶、湘尖茶、茯砖茶、黑砖茶、花砖茶、百两茶,茶叶产地品种为钩泽源(安化大叶)、钩泽源(福鼎大白)、天子山(福鼎大白),原料产地信息见表 1,购自湖南白沙溪茶厂股份有限公司。

表 1 样品信息表
Table 1 Information of samples

样品来源	品种	样品编号
钩泽源(安化大叶)	黑毛茶	T1
	湘尖茶	T2
	茯砖茶	T3
	黑砖茶	T4
	花砖茶	T5
	百两茶	T6
钩泽源(福鼎大白)	黑毛茶	T7
	湘尖茶	T8
	茯砖茶	T9
	黑砖茶	T10
	花砖茶	T11
	百两茶	T12
天子山(福鼎大白)	黑毛茶	T13
	湘尖茶	T14
	茯砖茶	T15
	黑砖茶	T16
	花砖茶	T17
	百两茶	T18

磷酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 乙腈、甲醇[色谱纯, 安谱科学仪器(上海)有限公司]; 标准品: 没食子酸(gallic acid, GA)、表没食子儿茶素[(-)-epigallocatechin, EGC]、儿茶素[(+)-catechin, C]、表儿茶素[(-)-epicatechin, EC]、表没食子儿茶素没食子酸酯[(-)-epigallocatechin gallate, EGCG]、表儿茶素没食子酸酯[(-)-epicatechin gallate, ECG]、咖啡因(caffeine, CAF)、可可碱(theobromine, THEOB)、茶碱(theophylline, THEOP)(纯度 $\geq 95\%$, 上海源叶生物科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

Waters e2695-2998 高效液相色谱仪-二极管阵列检测器(美国 Waters 公司); AB204-s 分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); Avanti JXN-26 高速冷冻离心机(贝克曼库尔特(美国)股份有限公司); EMS-40 恒温磁力搅拌水槽(上海百典仪器设备有限公司); MILLI-Q 纯水机(美国 Millipore 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

分别称取 10.0 mg GA、EGC、C、EC、EGCG、ECG、CAF、THEOB、THEOP 对照品, 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 配成 1.0 mg/mL 的标准储备液。实验中用流动相稀释上述标准储备液, 配成 0.50、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液。

1.3.2 样品前处理

将茶样粉碎后过 40 目筛, 称取 2.0 g 黑茶样品(精确至 0.01 g)于 50 mL 具塞比色管中, 加入 25 mL 水, 在 90 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中浸泡提取 20 min, 期间每隔 10 min 振摇 1 次。重复提取 2 次, 定容至 50 mL, 冷却至室温, 取上层清液过 0.45 μm 水相滤膜, 样品在 24 h 内完成进样分析。

1.3.3 液相色谱条件

液相色谱柱: 安捷伦 ZORBAX SB C_{18} (250 mm \times

4.6 mm, 5 μm); 流动相: A 相为 0.1% 磷酸水溶液, B 相为乙腈; 梯度洗脱程序: 0~20 min, 10%~25% B; 20~25 min, 25%~45% B; 25~30 min, 45%~10% B; 流速 1.0 mL/min; 进样体积 10 μL ; 测定波长 270 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2 结果与分析

2.1 前处理方法优化

分别采用热水水浴加热提取和 50%、60%、80% 甲醇溶液超声提取, 由于目标化合物在热水中溶解性好, 加热提取较充分, 研究结果显示, 水浴加热提取效率优于超声提取。加热过程有利于目标化合物的浸出, 适用于黑茶水溶性成分的提取。同时优化了提取时间和提取温度, 结果表明在 90 $^{\circ}\text{C}$ 浸提 20 min, 各主要成分的提取效率较高。提取温度升高或加热时间过长时, 多酚类物质容易分解, 降低了提取效率。水浴提取期间振摇和重复提取 1 次, 有利于更充分提取目标化合物。所以, 本研究前处理用水作提取溶剂, 在 90 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中浸泡提取 20 min, 期间每隔 10 min 振摇 1 次, 重复提取 2 次。

2.2 液相色谱条件优化

综合参考文献方法^[19-21]比较了甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸、甲醇-0.1% 乙酸、甲醇-0.1% 磷酸、乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸等不同流动相对分离效果的影响, 结果表明, 以乙腈-0.1% 磷酸进行梯度洗脱时, 所得基线平稳且分离效果好。由于黑茶样品中含有较多的儿茶素类化合物, 在流动相中加入磷酸, 可有效抑制其电离、改善峰形、减少拖尾现象。

同时考察了在 210、254、270、360 nm 4 个波长下的色谱图, 经比较发现 270 nm 波长下, 9 个组分相应值较高, 各峰分离度好, 基线较平稳、重复性好。故最终确定检测波长为 270 nm, 在上述条件下, 9 种化合物得到有效分离, 标准色谱图和样品色谱图见图 1。

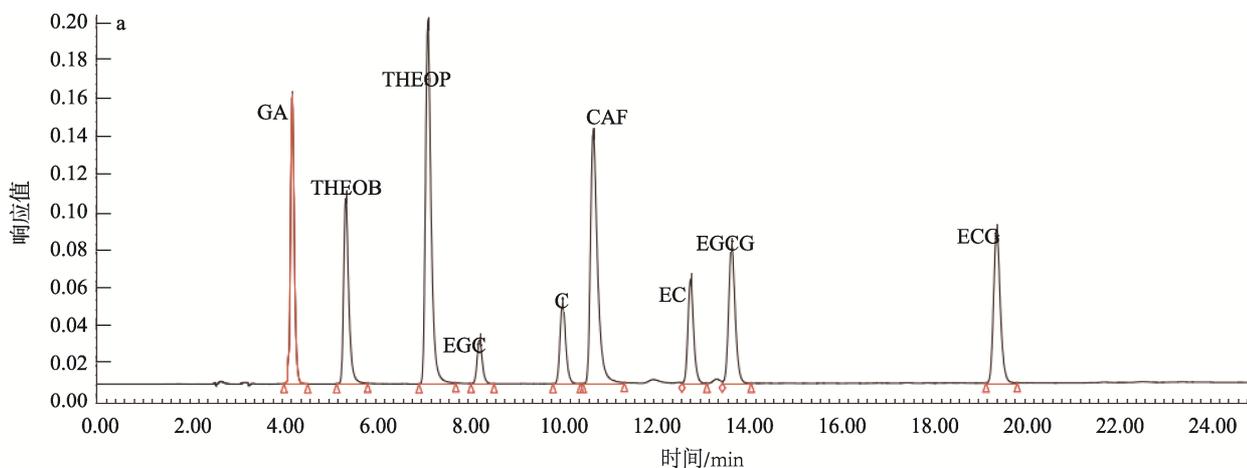


图1 混合标准色谱图(a)和样品色谱图(b)

Fig.1 Mix standard chromatogram (a) and samples chromatogram (b)

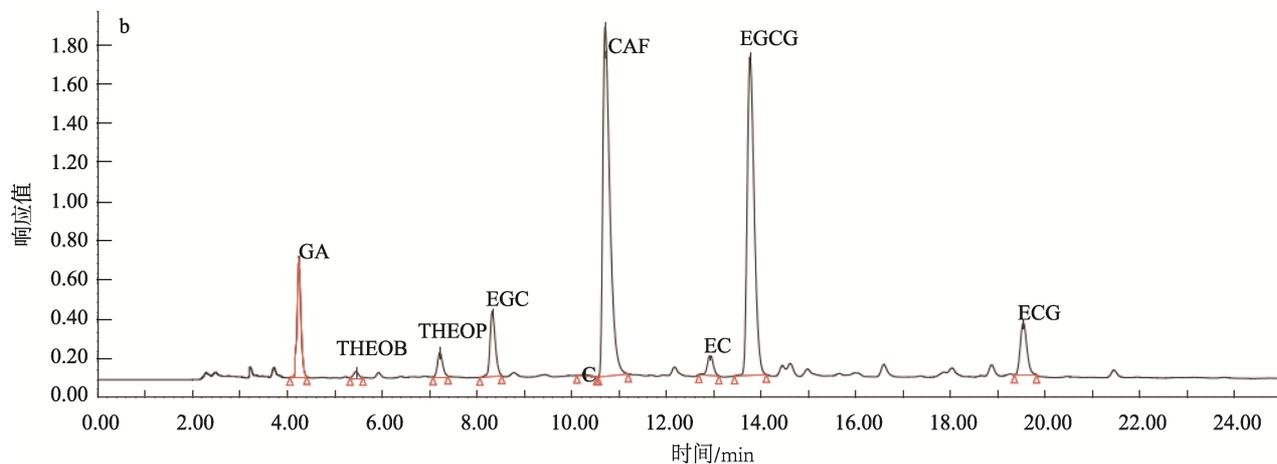


图 1(续) 混合标准色谱图(a)和样品色谱图(b)

Fig.1 Mix standard chromatogram (a) and samples chromatogram (b)

2.3 线性范围和检出限

实验中以 9 种目标化合物浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 并以 3 倍信噪比估算检出限。方法的线性方程、相关系数、检出限见表 2, 结果显示该方法线性良好, 相关系数(r)大于等于 0.9997, 满足检测的要求, 9 种组分的检出限在 0.010~0.10 mg/kg。

表 2 黑茶中 9 种化合物的标准曲线线性方程、相关系数和检出限

Table 2 Regression equations, correlation coefficients, limits of detection of 9 kinds of compounds in dark tea samples

组分	线性方程	相关系数 (r)	线性范围 /($\mu\text{g/mL}$)	检出限 /(mg/kg)
GA	$Y=2.88 \times 10^7 X + 5.33 \times 10^4$	$r=0.9999$	0.5~100	0.010
THEOB	$Y=1.26 \times 10^7 X + 2.47 \times 10^4$	$r=0.9999$	0.5~100	0.030
THEOP	$Y=3.12 \times 10^7 X + 7.67 \times 10^4$	$r=0.9997$	0.5~100	0.010
EGC	$Y=2.27 \times 10^6 X + 1.16 \times 10^4$	$r=0.9999$	0.5~100	0.100
C	$Y=4.42 \times 10^6 X + 9.32 \times 10^3$	$r=0.9998$	0.5~100	0.100
CAF	$Y=2.33 \times 10^7 X + 3.23 \times 10^4$	$r=0.9999$	0.5~100	0.030
EC	$Y=5.87 \times 10^6 X + 1.33 \times 10^4$	$r=0.9997$	0.5~100	0.100
EGCG	$Y=1.20 \times 10^7 X + 2.34 \times 10^4$	$r=0.9999$	0.5~100	0.050
ECG	$Y=1.32 \times 10^7 X + 3.04 \times 10^4$	$r=0.9999$	0.5~100	0.050

2.4 回收率和精密度

按照 1.3.2 的方法进行样品前处理, 1.3.3 的色谱条件分析。分别考察 10.0、20.0、100.0 mg/kg 3 个水平加标样品的回收率效果, 每个水平重复测定 6 次, 计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。实验结果见表 3, 9 种组分平均回收率为 81.20%~101.20%, 相对标准偏差为 1.88%~7.61%, 回收率和精密度良好。

表 3 黑茶中 9 种化合物的平均回收率和相对标准偏差($n=6$)
Table 3 Average recoveries and relative standard deviation of 9 kinds of components in dark tea ($n=6$)

组分	添加量 /(mg/kg)	测得量 /(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
GA	10	9.78	97.80	4.55
	20	18.96	94.80	5.26
	100	99.17	99.17	3.81
THEOB	10	10.12	101.20	5.89
	20	18.98	94.90	4.54
	100	95.18	95.18	4.55
THEOP	10	9.12	91.20	5.02
	20	18.96	94.80	4.88
	100	94.12	94.12	4.63
EGC	20	20.12	100.60	7.61
	40	36.19	90.48	7.11
	200	189.11	94.56	5.44
C	20	18.74	93.70	5.66
	40	38.88	97.20	5.12
	200	190.12	95.06	4.69
CAF	10	8.99	89.90	1.89
	20	18.96	94.80	2.96
	100	96.50	96.50	1.88
EC	20	18.53	92.65	2.12
	40	38.45	96.13	4.13
	200	196.51	98.26	2.05
EGCG	10	8.99	89.90	6.12
	20	18.94	94.70	5.02
	100	95.78	95.78	3.14
ECG	10	8.12	81.20	4.11
	20	18.45	92.25	3.56
	100	95.63	95.63	3.16

2.5 稳定性实验

取同一样品,按照 1.3.2 的方法进行样品前处理,1.3.3 的色谱条件下分别于 0、6、12、18、24 h 进样,计算各共有峰对应的保留时间和峰面积的相对标准偏差,考察黑茶提取液的稳定性。保留时间的相对标准偏差为 0.66%~1.39%,对应峰面积的相对标准偏差为 0.28%~2.75%,表明该实验方法所使用的色谱仪分析测定重复性良好。

2.6 安化黑茶中儿茶素类、生物碱类物质含量分析

采用上述方法测定黑毛茶以及由黑毛茶加工成的湘尖、茯砖、黑砖、花砖和百两茶的儿茶素类和生物碱类物质的含量,儿茶素类总量(total catechins, TC)以 EGC、C、EC、EGCG、ECG 之和计,总生物碱类(total alkaloids, TA)以 CAF、THEOB、THEOP 之和计,结果见表 4。儿茶素类总量平均含量为 10.67 g/100 g;总生物碱平均含量为 3.48 g/100 g。含量较高的儿茶素主要是 EGCG、EGC、ECG 3 种表型儿茶素,平均含量为分别为 5.45、2.99、1.35 g/100 g,占儿茶素总量的 91.8%。EGCG、ECG 这 2 种酯型儿茶素占儿茶素总量的 63.7%。虽然酯型儿茶素在发酵过

程中会转化成简单儿茶素,但酯型儿茶素在原料中本身含量高,成品黑茶中儿茶素仍然以酯型儿茶素为主。黑茶中生物碱主要来源于咖啡碱,它的平均含量为 3.28 g/100 g,约占总生物碱的 95%。

2.7 安化黑毛茶中儿茶素类、生物碱类物质含量分析

比较不同来源黑毛茶儿茶素类和生物碱类物质含量,结果见表 5。含量最高的组分为 EGCG,原料产自天子山(福鼎大白),含量为(7.54±0.38) g/100 g;产自钩泽源(安化大叶)、钩泽源(福鼎大白)的黑毛茶中 EGCG 含量分别(6.13±0.58)、(4.15±0.58) g/100 g。同一产地不同品种、同一品种不同产地原料用同一加工工艺生产的黑毛茶 EGCG 含量差异显著($P<0.05$),说明原料的产地和品种的差异会影响黑毛茶中 EGCG 的含量。生物碱含量最高的为 CAF,占黑毛茶生物碱总量的 91.2%~96.4%。不同来源的黑毛茶各组分含量差异较大,特别是含量较高的 EGC、EGCG、ECG、CAF 等组分。由于黑毛茶采用相同的工艺制作,因此导致功能成分差异的主要原因是品种、产地差异。

表 4 黑茶中 9 种化合物及 TC、TA 的含量(g/100 g)
Table 4 Content of 9 kinds of compounds, TC and TA in dark tea samples (g/100 g)

样品	GA	EGC	C	EC	EGCG	ECG	CAF	THEOB	THEOP	TC	TA
T1	0.35	4.43	0.12	0.82	6.13	1.12	2.93	0.035	0.077	12.62	3.04
T2	0.34	4.46	0.12	0.79	6.06	1.13	3.07	0.032	0.065	12.56	3.17
T3	1.01	4.31	0.10	0.83	4.64	0.86	3.05	0.030	0.038	10.74	3.12
T4	0.33	3.68	0.11	0.82	6.06	1.29	3.13	0.028	0.070	11.96	3.23
T5	0.23	3.86	0.12	0.78	5.86	1.26	2.92	0.025	0.072	10.88	3.02
T6	0.29	3.51	0.10	0.82	6.32	1.31	3.02	0.030	0.074	12.06	3.12
T7	0.18	2.87	0.10	0.94	4.15	1.66	2.58	0.17	0.084	9.72	2.83
T8	0.23	2.80	0.14	0.96	4.18	1.69	2.72	0.18	0.067	9.77	2.97
T9	0.52	2.71	0.10	0.99	2.72	1.09	2.86	0.20	0.038	7.61	3.10
T10	0.25	2.40	0.12	0.84	3.78	1.52	2.72	0.18	0.072	8.66	2.97
T11	0.21	2.49	0.12	0.86	4.02	1.54	2.71	0.19	0.048	9.03	2.95
T12	0.24	2.49	0.13	0.86	4.04	1.60	2.68	0.18	0.079	9.12	2.94
T13	0.31	2.71	0.10	0.56	7.54	1.51	3.94	0.15	0.11	12.42	4.20
T14	0.34	2.44	0.09	0.62	7.53	1.54	4.28	0.18	0.10	12.22	4.56
T15	0.50	2.72	0.09	0.71	5.20	1.08	4.10	0.17	0.038	9.80	4.31
T16	0.36	1.90	0.08	0.48	6.78	1.39	4.16	0.18	0.094	10.63	4.43
T17	0.38	2.08	0.08	0.52	6.91	1.4	4.18	0.16	0.096	10.99	4.44
T18	0.36	1.97	0.09	0.54	6.41	1.28	4.04	0.16	0.10	10.29	4.30
平均值	0.36	2.99	0.11	0.76	5.45	1.35	3.28	0.13	0.070	10.67	3.48
最小值	0.18	1.90	0.08	0.48	2.72	0.86	2.58	0.03	0.040	7.61	2.83
最大值	1.01	4.46	0.14	0.99	7.54	1.69	4.28	0.20	0.11	13.06	4.56

表 5 不同来源黑毛茶中 9 种化合物及 TC、TA 的含量(n=3)
Table 5 Content of 9 kinds of compounds, TC and TA in raw dark green tea from different sources (n=3)

组分 (g/100g)	钩泽源 (安化大叶)	钩泽源 (福鼎大白)	天子山 (福鼎大白)
GA	0.35±0.06 ^a	0.18±0.04 ^b	0.31±0.08 ^a
EGC	4.43±0.15 ^a	2.86±0.16 ^b	2.71±0.15 ^b
C	0.12±0.02 ^a	0.10±0.04 ^b	0.098±0.03 ^b
EC	0.82±0.05 ^a	0.94±0.04 ^a	0.56±0.03 ^b
EGCG	6.13±0.58 ^a	4.15±0.58 ^b	7.54±0.38 ^c
ECG	1.12±0.23 ^a	1.66±0.25 ^b	1.50±0.28 ^b
CAF	2.93±0.33 ^a	2.58±0.33 ^a	3.94±0.23 ^b
THEOB	0.035±0.01 ^a	0.17±0.01 ^b	0.15±0.02 ^b
THEOP	0.077±0.02 ^a	0.084±0.04 ^a	0.11±0.02 ^b
TC	12.63±0.88 ^a	9.72±0.69 ^b	12.41±0.78 ^a
TA	3.04±0.55 ^a	2.83±0.45 ^a	4.19±0.43 ^b

注: 同行上标相同字母表示差异不显著($P>0.05$), 不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.8 茯砖茶儿茶素类、生物碱类物质含量的变化

黑茶加工过程中儿茶素类物质含量的变化对其品质

的形成具有非常重要的作用, 因此研究安化黑茶后发酵过程中儿茶素类物质含量的变化规律具有极其重要的意义。茯砖茶、湘尖茶、黑砖茶、花砖茶、百两茶是由黑毛茶通过不同生产工艺加工而成。茯砖茶加工中独有的“发花”工艺, 使茯砖茶加工过程中的内含成分在微生物参与下发生了复杂的变化, 形成了其特有的品质风味。比较钩泽源(安化大叶)、钩泽源(福鼎大白)、天子山(福鼎大白)3 种来源的黑毛茶与茯砖茶各组分含量的变化。不同来源黑毛茶与其加工生产的茯砖茶含量分布如图 2 所示, 茯砖茶生产过程中, EGCG、ECG 和 GA 变化较大, 3 种不同原料加工的茯砖茶相比于黑毛茶 EGCG、ECG 和 TC 均出现了不同程度的下降, GA 含量均大幅增加。砖茶中相较于黑毛茶 EGCG 和 ECG 含量下降较大, 平均含量分别下降了 35.5%和 36.0%; 而 GA 含量增加了 157%。且不同黑毛茶生产的茯砖茶中 EGCG 和 GA 的变化趋势一致, 即 EGCG 含量下降, GA 含量增加(图 3)。李博等^[22]对 EGCG 体内外转化研究表明, EGCG 在一定的条件下可转化成 GA 等多种产物。因此酯型儿茶素 EGCG 的下降和 GA 的增加可能是茯砖茶加工过程中经微生物酶解作用发生了转化。这些内含物的变化可能对茯砖茶的风味形成有着重要的影响。茯砖茶加工过程中 THEOP 含量下降明显, CAF、THEOB 含量无明显变化, TA 主要来源于 CAF, TA 含量也无明显变化。

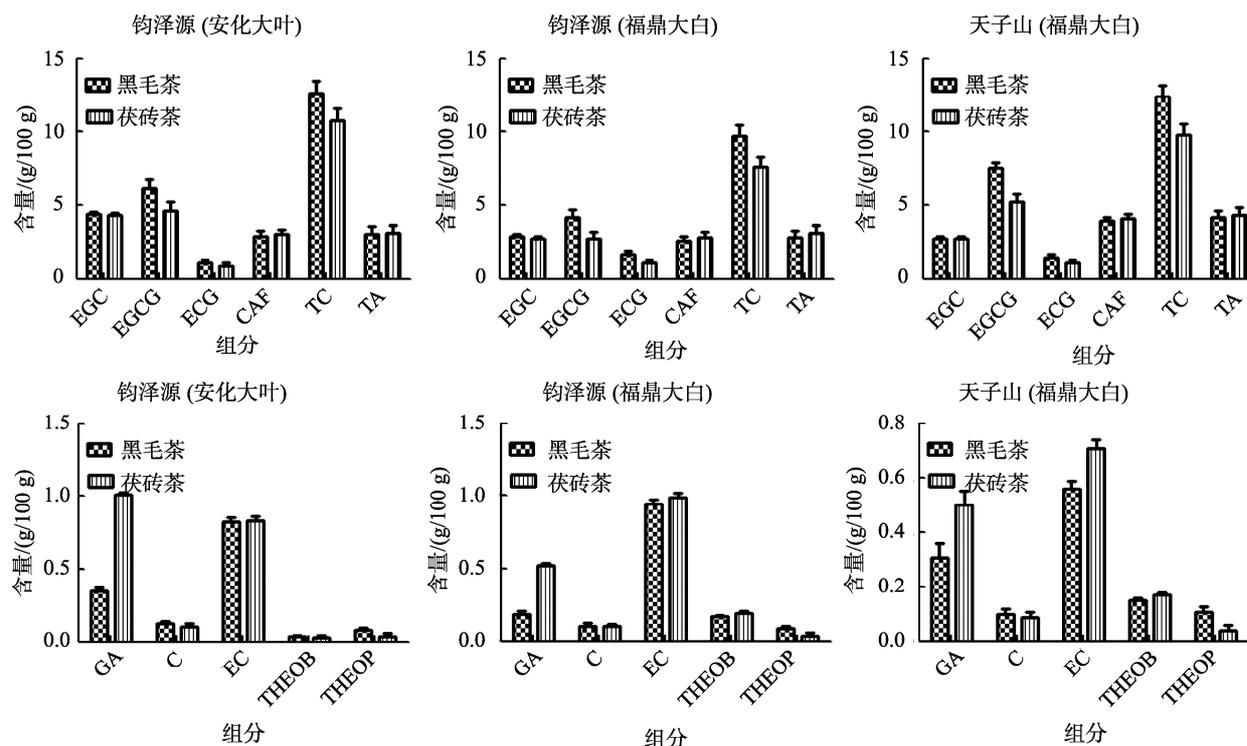


图 2 黑毛茶、茯砖茶中 9 种化合物及 TC、TA 的平均含量(n=3)

Fig.2 Average content of 9 kinds of compounds, TC and TA in raw dark green tea and Fuzhuan brick tea samples (n=3)

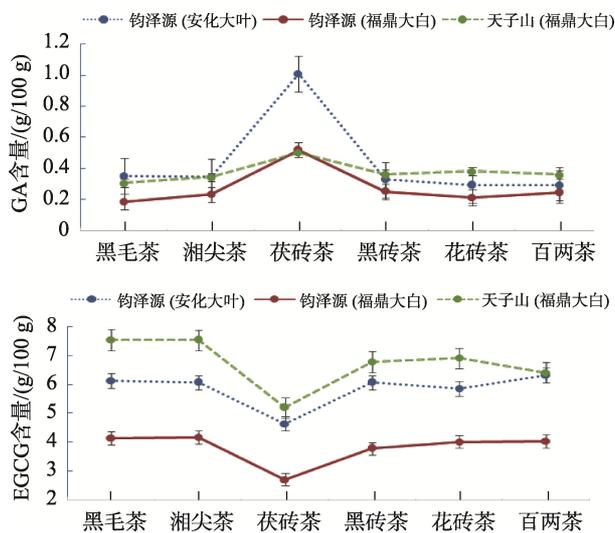


图 3 黑毛茶、湘尖茶、茯砖茶、黑砖茶、花砖茶、百两茶中 GA 和 EGCG 的平均含量($n=3$)

Fig.3 Average content of GA and EGCG in raw dark green tea, Xiangjian tea, Fuzhuan tea, dark black tea, Huazhuan tea and Baijiang tea ($n=3$)

2.9 湘尖茶、黑砖茶、花砖茶、百两茶儿茶素类、生物碱类物质含量的变化

比较黑毛茶和湘尖茶、黑砖茶、花砖茶、百两茶儿茶素类、生物碱类物质含量的变化,如图 4 所示,儿茶素总量有少量的下降,其他各组分含量变化不大。黑砖茶、花砖茶加工工艺相同,加工过程中 EGC、EGCG 均有一定程度的下降但变化不明显;湘尖茶和百两茶加工过程中 EGC、EGCG 和 ECG 含量有升有降,没有表现出一定的规律性。湘尖茶、黑砖茶、花砖茶、百两茶中咖啡因、可可碱、茶碱的含量变化和茯砖茶相似,与黑毛茶相比含量均无显著差别,说明此类工艺对生物碱含量变化影响较小。

3 结论与讨论

本研究建立了同时检测黑茶中 9 种儿茶素类和生物碱类功能成分的高效液相色谱法。该方法结果准确、重现性好,可用于评价黑茶加工过程中儿茶素类、生物碱类单体及总量的变化情况。不同来源的黑毛茶儿茶素类、生物碱类成分含量差异较大,在生产过程中应把好原料关,根据产品需要选择合适的原料。茯砖茶后发酵过程中酯型儿茶素可转化成其他成分,由于不同功能成分含量影响黑茶的风味和品质,因此后发酵也是茯砖茶品质形成的关键工序,生产中应严格控制工艺条件,保证产品的质量。本研究下一步将运用此方法探讨黑茶后发酵工艺条件与儿茶素、生物碱等成分变化的关系,为安化黑茶的科学拼配、工艺改进、风味改善提供科学依据。

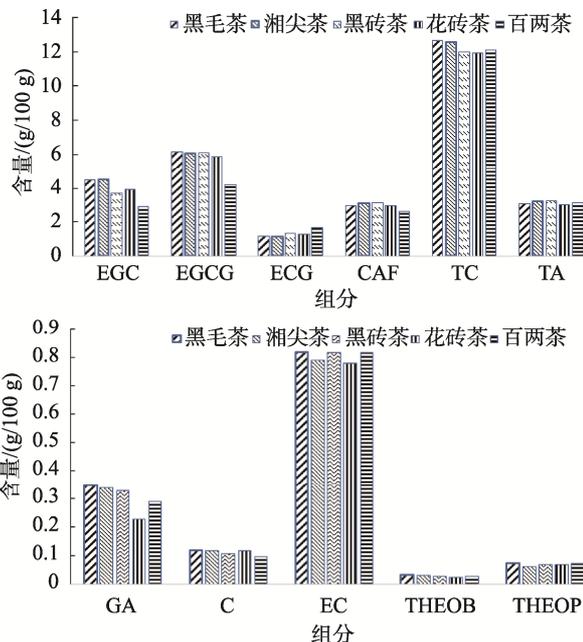


图 4 黑毛茶与湘尖茶、黑砖茶、花砖茶、百两茶中 9 种化合物及 TC、TA 的平均含量($n=3$)

Fig.4 Average content of 9 kinds of compounds, TC and TA in raw dark green tea, Xiangjian tea, dark black tea, Huazhuan tea and Baijiang tea ($n=3$)

参考文献

- 蒋萍萍, 伍琳琳, 王铁龙. 黑茶的研究进展[J]. 农产品加工, 2020, 499(5): 73-78.
JIANG PP, WU LL, WANG TL. Research progress of black tea [J]. Farm Prod Process, 2020, 499(5): 73-78.
- CAO ZH, GU DH, LIN QY, *et al.* Effect of Pu-erh tea on body fat and lipid profiles in rats with diet-induced obesity [J]. Phytother Res Ptr, 2011, 25(2): 234-238.
- 蒋金星, 何华锋, 桂安辉, 等. 中国黑茶的起源与加工工艺[J]. 中国农学通报, 2017, 460(25): 70-75.
JIANG JX, HE HF, GUI AH, *et al.* Chinese dark tea: Origination and processing [J]. Chin Agric Sci Bull, 2017, 460(25): 70-75.
- 吉杰丽, 袁丹丹, 刘飞, 等. 黑茶品质形成机制研究进展[J]. 食品与药品, 2016, 18(1): 52-60.
JI JL, YUAN DD, LIU F, *et al.* Research progress in formation mechanism of Fuzhuan brick tea quality [J]. Food Drug, 2016, 18(1): 52-60.
- 姜依何, 卢翠, 吴丹. 湖南黑茶品质与主要产品拼配[J]. 湖南农业学, 2017, 380(5): 94-96.
JIANG YH, LU C, WU D. The quality and major products blending of Hunan dark tea [J]. Hunan Agric Sci, 2017, 380(5): 94-96.
- 张鑫, 马丽苹, 张芸, 等. 茶叶儿茶素对肠道微生态的调节作用[J]. 食品科学, 2013, 34(5): 232-237.
ZHANG X, MA LP, ZHANG Y, *et al.* Regulatory effect of tea catechins on intestinal microecology [J]. Food Sci, 2013, 34(5): 232-237.
- 傅冬和, 刘仲华, 黄建安. 茯砖茶加工过程中主要化学成分的变化[J]. 食品科学, 2008, 339(2): 64-67.

- FU DH, LIU ZH, HUANG JA. Variations of components of Fuzhuan tea during processing [J]. Food Sci, 2008, 339(2): 64–67.
- [8] 黄艳君. 安化黑毛茶后发酵技术研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014.
HUANG YJ. The technical research on secondary fermentation of Anhua raw dark green tea [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2014.
- [9] 张云天, 姚晓玲, 鲁江. 黑茶茶褐素的研究现状及进展[J]. 食品工业科技, 2017, 379(11): 395–399.
ZHANG YT, YAO XL, LU J. Current research status and progress of the theabrownine in dark tea [J]. Sci Technol Food Ind, 2017, 379(11): 395–399.
- [10] 王茹茹, 肖孟超, 李大祥. 黑茶品质特征及其健康功效研究进展[J]. 茶叶科学, 2018, 38(2): 113–124.
WANG RR, XIAO MC, LI DX. Recent advance on quality characteristics and health effects of dark tea [J]. Tea Sci, 2018, 38(2): 113–124.
- [11] KIVITS GAA, SMAN VDFJP, TIJBURG LBM. Analysis of catechins from green and black tea in humans [J]. Int J Food Sci Nutr, 1997, 48(6): 387–392.
- [12] TAO WQ, ZHOU ZG, ZHAO B, *et al.* Simltaneous determination of eight catechins and four theaflavins in green, black and oolong tea using new HPLC-MS-MS method [J]. J Pharmaceut Biomed, 2016, (131): 140–145.
- [13] 彭映林, 谢丹, 李媛, 等. 黑茶中茶多酚的提取及其含量测定方法的研究进展[J]. 广东化工, 2019, 405(19): 110–111, 138.
PENG YL, XIE D, LI Y, *et al.* Research progress on extraction and determination methods of tea polyphenols in dark tea [J]. Guangdong Chem Ind, 2019, 405(19): 110–111, 138.
- [14] 赵熙, 黄浩, 钟妮, 等. 黑毛茶加工过程中主要生化成分变化及相关性研究[J]. 茶叶通讯, 2017, 181(3): 27–31.
ZHAO X, HUANG H, ZHONG N, *et al.* Study on the change and correlation of main components in dark tea maocha processing [J]. Tea Commun, 2017, 181(3): 27–31.
- [15] LU H, YUE P, WANG Y, *et al.* Study of bioactive components and color properties of dark tea infusion manufactured by eurotium cristatum using submerged fermentation [J]. Adv J Food Sci Technol, 2016, 10(8): 591–596.
- [16] 龚意成, 李昊彬. 不同产地安化黑茶品质差异研究[J]. 分析检测, 2019, (19): 158–162.
GONG YC, LI HB. Study on quality difference of Anhua dark tea from different production areas [J]. Anal Test, 2019, (19): 158–162.
- [17] 王丽, 林昕, 汪祿祥. 茶叶中多种功能成分含量测定与分析研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(22): 7779–7786.
WANG L, LIN X, WANG LX. Determination and analysis of multifunctional components in tea [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(22): 7779–7786.
- [18] 肖俊松, 袁英髦, 张爱雪. 茶叶中茶多酚和生物碱的测定及聚类线性判别分析[J]. 食品科学, 2010, 395(22): 343–348.
XIAO JS, YUAN YH, ZHANG AX. Determination of polyphenols and alkaloids in tea and cluster-linear discrimination analysis [J]. Food Sci, 2010, 395(22): 343–348.
- [19] 白秀芝, 王美玲, 颜鸿飞. 高效液相色谱指纹图谱和随机森林应用于湖南安化黑茶水溶性成分的研究[J]. 分析测试学报, 2014, 23(11): 1268–1273.
BAI XZ, WANG ML, YAN HF. Investigation on fingerprint of Hunan Anhua dark teas water-soluble components by high performance liquid chromatography and random forest [J]. J Instrum Anal, 2014, 23(11): 1268–1273.
- [20] 李伟, 张春燕, 李凤. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定茶叶中儿茶素和茶黄素[J]. 现代预防医学, 2019, 46(22): 4179–4184.
LI W, ZHANG CY, LI F. Simultaneous determination of catechins and theaflavins in tea by UPLC MS/MS [J]. Mod Prev Med, 2019, 46(22): 4179–4184.
- [21] 王斌, 邓慧芸, 吴茂. 安化黑茶水溶性成分高效液相色谱指纹图谱及定量分析[J]. 食品科学, 2017, 561(20): 125–130.
WANG B, DENG HY, WU M. HPLC Fingerprint and quantitative analysis of water-soluble components in Anhua dark tea [J]. Food Sci, 2017, 561(20): 125–130.
- [22] 李博, 吴媛媛, 屠幼英. 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的体内外转化及产物活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(2): 351–355, 318.
LI B, WU YY, TU YY. Research progress of (-)-epigallocatechin-3-gallate transformation *in vitro* and *in vivo* and bioactivities of its products [J]. Nat Prod Res Dev, 2010, 22(2): 351–355, 318.

(责任编辑: 张晓寒 韩晓红)

作者简介



宋 阳, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全质量分析。
E-mail: 233019000@qq.com