

卢利平,丁功涛,刘 苗,等. 凤冈绿茶中有效成分的提取工艺[J]. 江苏农业科学,2021,49(13):170-175.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.13.033

# 凤冈绿茶中有效成分的提取工艺

卢利平<sup>1,2</sup>, 丁功涛<sup>2</sup>, 刘 苗<sup>1</sup>, 张 利<sup>1</sup>, 杨舜铨<sup>1</sup>, 高丹丹<sup>1,2</sup>, 臧荣鑫<sup>1,2</sup>

(1. 西北民族大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730030; 2. 西北民族大学生物医学研究中心中国马来西亚国家联合实验室, 甘肃兰州 730030)

**摘要:**以凤冈绿茶为原料,探讨并确定没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 提取的最佳工艺条件。在甲醇浓度、浸提温度、浸提时间、料液比 4 个单因素试验的基础上,采用  $L_9(3^4)$  正交试验设计和高效液相色谱法(HPLC)检测,以没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量为指标确定最佳工艺参数。结果表明,各有效成分的最佳提取工艺条件为:甲醇浓度 70%,浸提温度 65℃,浸提时间 40 min,料液比为 1:30(g/mL);此工艺条件下得到凤冈绿茶浸提液中没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量分别为  $(1.58 \pm 0.06)$ 、 $(48.62 \pm 1.03)$ 、 $(20.31 \pm 0.56)$ 、 $(44.36 \pm 0.67)$ 、 $(136.28 \pm 1.32)$  mg/g,精密性、重复性和回收率的 RSD 均小于 5%。该结果可为凤冈绿茶的进一步研究提供理论基础,也为开拓其茶保健产品提供参考依据。

**关键词:**凤冈绿茶;提取工艺;正交试验;HPLC;没食子酸;咖啡因;可可碱;EGC;EGCG

**中图分类号:** TS272.2;TS201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)13-0170-06

多酚类物质是茶叶中主要的功效成分,包括儿茶素、黄酮醇及其配合物、无色花青素、酚酸及缩酚酸等<sup>[1]</sup>,儿茶素类物质占茶多酚总量的 60%~80%,主要包括儿茶素(C)、表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素没食子酸酯(EGC)和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)等单体物质,具有抗氧化、抗突变、抗癌<sup>[2]</sup>、抗衰老、降血脂、抑菌和抑制病毒等功效<sup>[3-4]</sup>。没食子酸是茶叶中一种重要的酚酸类物质,可能与某些茶类的保健功效有密切关系<sup>[5]</sup>。生物碱主要包括咖啡因、可可碱和茶碱<sup>[6]</sup>,这些成分是茶汤重要的滋味物质<sup>[7-9]</sup>,在茶叶的保健功效和分类品鉴上起到重要作用<sup>[10]</sup>。茶叶中的有效成分是评价和控制茶叶质量的标准,可以快速鉴定茶叶品质<sup>[11]</sup>。综合国内外对没食子酸、咖啡因、可可碱、儿茶素等的检测方法分析得出<sup>[12-14]</sup>,高效液相色谱法因其应用广泛、灵敏度高、精确度高且技术成熟等成为主要的检测方法<sup>[15-18]</sup>。

武陵山片区生态条件优越,是优质茶叶的历史

产区,而且多以春茶采摘为主<sup>[19]</sup>。贵州省遵义市凤冈县茶叶生产已成为当地山区茶农的主要收入来源<sup>[20-21]</sup>,但茶资源利用率不高,有关凤冈绿茶有效成分的提取技术文献鲜有报道<sup>[22]</sup>。本研究通过对凤冈绿茶中的提取工艺条件进行优化,利用高效液相色谱(HPLC)同时测定没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量,为进一步研究凤冈绿茶的保健功效提供理论依据,同时为武陵山片区凤冈绿茶深加工产品的生产及产品质量控制提供数据基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 均为分析纯,购自成都德思特生物技术有限公司;甲醇、乙腈、乙酸均为色谱纯,购自奥科生物技术有限公司;凤冈绿茶,购自贵州省凤冈县娄山春茶叶专业合作社;娃哈哈水,购自杭州娃哈哈集团有限公司。

### 1.2 主要仪器与设备

Agilent Technologies 1200 高效液相色谱仪(DAD 检测器)、Lichrospher C<sub>18</sub> 反相柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),购自美国 Agilent 公司;HWS28 型 LCQ 电热恒温水浴锅、BWS-0505 型恒温水槽水浴锅,购自上海一恒科学仪器有限公司;Dor Yang DA 型电子分析天平,购自渡扬精密仪器(上海)有限公司;WJX-200 型高速多功能粉碎机,购自上海缘沃

收稿日期:2020-11-05

基金项目:西北民族大学 2020 年校级教育教学改革研究一般项目(编号:2020YBJG-44);甘肃省国际科技合作项目(编号:17YF1WA166)。

作者简介:卢利平(1990—),女,甘肃天水人,硕士,讲师,主要从事食品生物技术方面的研究。E-mail:llp901030@126.com。

通信作者:丁功涛,博士,讲师,主要从事化学工程相关研究。E-mail:dinggongtao@outlook.com。

工贸有限公司。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 茶粉的预处理** 将茶叶在粉碎机中粉碎后过 40 目筛,称取一定质量的茶粉于 50 mL 离心管中,加入预热过的浸提溶剂 5 mL,立即转入水浴中浸提一定时间,冷却至室温,在 12 000 r/min 转速下离心 10 min 后收集上清液,重复浸提 1 次,合并所得上清液。准确取上清液 2 mL 于 5 mL 容量瓶中,稀释并定容至刻度,过 0.22  $\mu\text{m}$  膜,即为待测液。

**1.3.2 高效液相色谱条件选择**<sup>[22-23]</sup> 利用高效液相色谱仪对待测液进行检测,流动相 A:90 mL 乙腈、20 mL 乙酸、2 mL 乙二胺四乙酸(EDTA)溶液(10 g/L),去离子水定容至 1 L;流动相 B:800 mL 乙腈、20 mL 乙酸、2 mL EDTA 溶液(10 g/L),以去离子水定容至 1 L,流动相 A、B 液需过 0.22  $\mu\text{m}$  膜。综合考虑测定波长为 278 nm、柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ 、流速为 1.0 mL/min,进液量为 10  $\mu\text{L}$ 。待流速和柱温稳定,基线跑平后,序列运行并作空白对照,测试液以峰面积定量。梯度洗脱条件<sup>[24]</sup>见表 1。

表 1 线性梯度洗脱条件

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	流速 (mL/min)
0	100	0	1.0
10	100	0	1.0
15	68	32	1.0
25	68	32	1.0
30	100	0	1.0

**1.3.3 标准溶液的配制** 将 25 mL EDTA 溶液(10 g/L)、25 mL 抗坏血酸溶液(10 g/L)、50 mL 乙腈以去离子水定容至 500 mL,制得稳定溶液。准确称取没食子酸标准品 0.02 g,以稳定溶液溶解于 10 mL 容量瓶并定容至刻度,没食子酸标准储备液浓度为 2 mg/mL;分别移取没食子酸储备液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 6 个 10 mL 容量瓶中,用稳定溶液溶解并定容至刻度,没食子酸标准品溶液浓度分别为 0、40、80、120、160、200  $\mu\text{g/mL}$ 。咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 标准品溶液配法同上。

**1.3.4 提取工艺条件的单因素试验** (1) 甲醇浓度对提取工艺的影响。在料液比为 1 g : 25 mL,浸提温度为 70  $^{\circ}\text{C}$ ,浸提时间为 30 min,甲醇浓度(甲醇水溶液)分别为 0、65%、70%、75%、80%、85% 的条件下,利用 HPLC 检测没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量。(2) 浸提温度对提取工艺的

影响。在料液比为 1 g : 25 mL,浸提时间为 30 min,甲醇浓度为 70%,浸提温度分别为 55、60、65、70、75  $^{\circ}\text{C}$  的条件下,利用 HPLC 检测没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量。(3) 浸提时间对提取工艺的影响。在料液比为 1 g : 25 mL,甲醇浓度为 70%,浸提温度为 70  $^{\circ}\text{C}$ ,浸提时间分别为 10、20、30、40、50 min 的条件下,利用 HPLC 检测没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量。(4) 料液比对提取工艺的影响。在甲醇浓度为 70%,浸提温度为 70  $^{\circ}\text{C}$ ,浸提时间为 40 min,料液比分别为 1 : 15、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35(g : mL) 的条件下,利用 HPLC 检测没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量。

**1.3.5 正交试验设计** 通过单因素试验结果分析确定正交试验条件范围,选取甲醇浓度、浸提温度、浸提时间、料液比作为工艺优化的响应值,工艺优化试验选取甲醇浓度、浸提温度、浸提时间、料液比 4 个因素进行  $L_9(3^4)$  水平正交试验,分析各因素对没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 浸出量的影响,以期获得没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 浸出量均高的组合,正交试验设计见表 2。

表 2 正交试验因素水平

水平	因素			
	A	B	C	D
1	70	65	30	1 : 25
2	75	70	40	1 : 30
3	80	75	50	1 : 35

注:A—甲醇浓度(%);B—浸提温度( $^{\circ}\text{C}$ );C—浸提时间(min);D—料液比(g : mL)。

**1.3.6 方法学考察** 取 1 份待测茶样,按上述提取工艺优化条件操作,HPLC 连续测定 5 次,评价方法的精密性;取同一批 6 份凤冈绿茶茶粉,按照上述提取工艺优化条件处理,进行重复性考察,评价方法的稳定性;在已知各组分浓度的茶粉中加入不同浓度相对应的标准品,评价方法的回收率。精密性、重复性及回收率均用相对标准偏差(RSD)来衡量。

$$RSD = s/\bar{x} \times 100\%$$

式中: $s$  表示标准偏差; $\bar{x}$  表示平均值。

### 1.4 数据分析

数据处理采用 Excel 2016 软件,制图采用 Originpro 8.0 软件。每组试验重复 3 次,结果以平均值作为最终的测量值(SPSS 16.0 分析数据之间的显著性差异)。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线的绘制

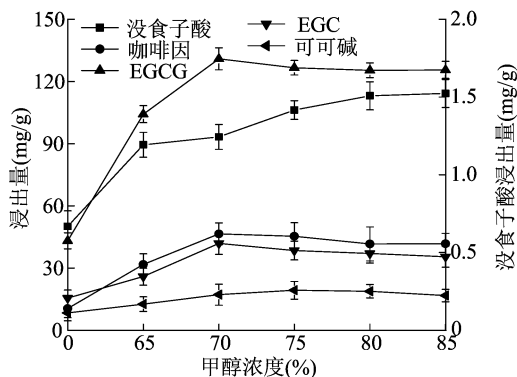
在既定的高效液相色谱条件下,各标准溶液,没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 相应的峰面积值( $y$ )与浓度( $x$ )的线性回归方程及相关系数见表 3。可知,没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浓度与对应峰面积呈良好的线性关系,其相关系数均在 0.999 以上。

表 3 标准品的线性方程及相关系数

组分	线性方程	相关系数( $r$ )
没食子酸	$y = 11\ 345.0x - 125.570$	0.999 1
咖啡因	$y = 44\ 427.0x + 137.480$	0.999 4
可可碱	$y = 5\ 902.6x - 74.143$	0.999 1
EGC	$y = 2\ 807.4x - 19.857$	0.999 0
EGCG	$y = 12\ 406x - 54.943$	0.999 3

### 2.2 单因素试验

2.2.1 甲醇浓度对提取工艺的影响 由图 1 可知,随着甲醇浓度的增加,没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量曲线先缓慢上升后趋于平缓,其中没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC 的增长趋势相对于 EGCG 较为平缓。当甲醇浓度为 0,即选择纯水做浸提溶剂时,虽然能检测到各组分的浸出量,但是检测量都比较低;当甲醇浓度为 70% 时,EGC、EGCG 含量达到最大值,这与国标法 GB/T 8318—2008《食品添加剂 生姜(精)油(蒸馏)》里提取剂为 70% 甲醇的条件<sup>[24]</sup>相一致。继续增加甲醇浓度,各组分的浸出量略有下降,EGC 的下降程度明显高于其他物质,可见甲醇浓度对 EGC 的影响较大。经过综合考虑单因素结果,选择甲醇浓度为 70%、75%、80% 做正交试验设计。



左侧纵坐标指除没食子酸外的其他成分浸出量。下图同  
图1 甲醇浓度对提取工艺的影响

2.2.2 浸提温度对提取工艺的影响 由图 2 可知,

在一定温度范围内,没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量随着浸提温度的升高不断增加,咖啡因、EGC、EGCG 的增长趋势较为明显;当浸提温度达到 70 ℃ 时,EGCG 浸出量达到最大值,为 130.95 mg/g 即约占 13.10%;在同样温度下浸提道泉雅女茶 EGCG 含量最大为 6.04%<sup>[25]</sup>,可见凤冈绿茶中 EGCG 的含量相对较高;继续升高温度各组分含量增长较为平缓且咖啡因、EGC、EGCG 略微有下降趋势。究其原因,茶叶提取工艺过程其实是各组分向浸提溶剂扩散的过程,随着温度的升高,扩散速度逐渐提高,但当温度高于某个特定值后,EGC、EGCG 易发生氧化作用,测定值略有降低,继续升高温度对浸出量的影响不大。经过综合考虑单因素结果,选择浸提温度 65、70、75 ℃ 做正交试验设计。

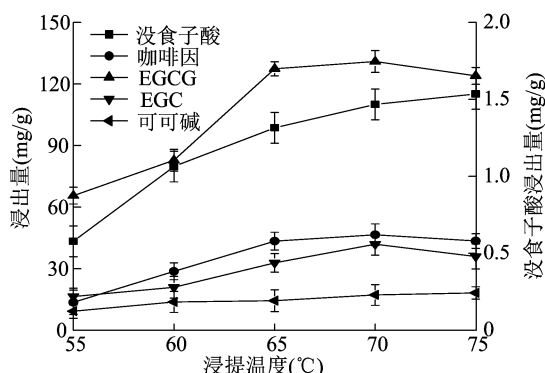


图2 浸提温度对提取工艺的影响

2.2.3 浸提时间对提取工艺的影响 由图 3 可知,当浸提时间为 10 min 时,各组分浸出量都较低;浸提时间超过 30 min 后,可可碱和没食子酸浸出量增加缓慢;当浸提时间达到 40 min 时,咖啡因、EGC、EGCG 浸出量达到最大值,而后 EGC、EGCG 浸出量均有明显的下降趋势,可能随着浸提时间延长,EGC、EGCG 部分发生氧化作用,测定值降低。经过综合考虑单因素结果,选择浸提时间 30、40、50 min 做正交试验设计。

2.2.4 料液比对提取工艺的影响 由图 4 可知,随着浸提溶剂的增加,没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量先缓慢增加后趋于稳定;当料液比达到 1 g : 25 mL 时,咖啡因、EGC、EGCG 浸出量达到最大值;继续添加浸提溶剂,各组分浸出量变化不大。究其原因,茶粉中没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的含量是一定的,当料液比到达一定值后,各组分浸出量已达到最大值,继续添加浸提溶剂,部分 EGC 与 EGCG 由于高温发生氧化作

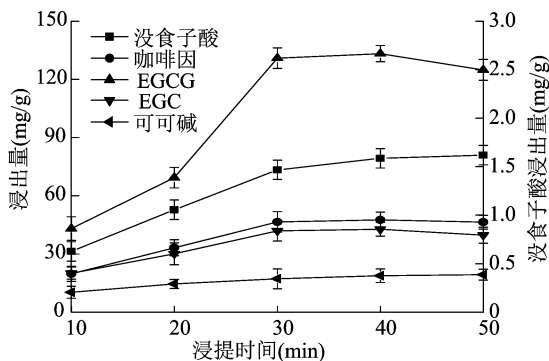


图3 浸提时间对提取工艺的影响

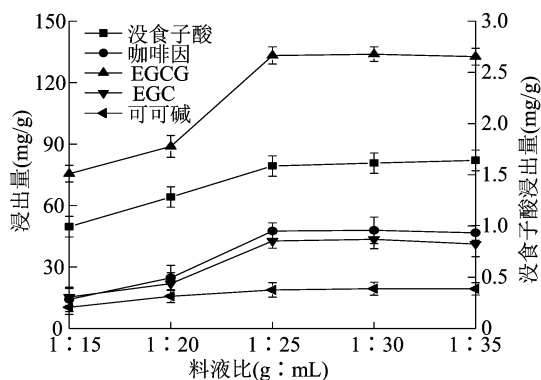


图4 料液比对提取工艺的影响

用而使测定值偏低<sup>[20]</sup>。经过综合考虑单因素结果,选择料液比 1 g : 25 mL、1 g : 30 mL、1 g : 35 mL 做正交试验设计。

### 2.3 正交试验设计

在  $L_9(3^4)$  水平正交试验设计中进行 4 因素 3 水平试验,正交试验结果见表 4。可以看出,影响凤冈绿茶中没食子酸浸出量的因素主次顺序为  $B > D > C > A$ ,即浸提温度 > 料液比 > 浸提时间 > 甲醇浓度;最佳浸提组合为  $A_2B_3C_3D_1$ ,即甲醇浓度 75%,浸提温度 75℃,浸提时间 50 min,料液比 1 g : 25 mL。影响咖啡因浸出量的因素主次顺序为  $D > A > C > B$ ,即料液比 > 甲醇浓度 > 浸提时间 > 浸提温度;最佳浸提组合为  $A_1B_2C_2D_1$ ,即甲醇浓度 70%,浸提温度 70℃,浸提时间 40 min,料液比 1 g : 25 mL。影响可可碱浸出量的因素主次顺序为  $A > B > C > D$ ,即甲醇浓度 > 浸提温度 > 浸提时间 > 料液比;最佳浸提组合为  $A_1B_1C_3D_2$ ,即甲醇浓度 70%,浸提温度 65℃,浸提时间 50 min,料液比 1 g : 30 mL。影响 EGC 浸出量的因素主次顺序为  $A > B > C > D$ ,即甲醇浓度 > 浸提温度 > 浸提时间 > 料液比;最佳浸提组合为  $A_1B_1C_2D_2$ ,即甲醇浓

度 70%,浸提温度 65℃,浸提时间 40 min,料液比 1 g : 30 mL。影响 EGCG 浸出量的因素主次顺序为  $C > B > A > D$ ,即浸提时间 > 浸提温度 > 甲醇浓度 > 料液比;最佳浸提组合为  $A_1B_1C_2D_2$ ,即甲醇浓度 70%,浸提温度 65℃,浸提时间 40 min,料液比 1 g : 30 mL。

将甲醇浓度 70% 增大到 75%,没食子酸浸出量增加了 0.07 mg/g,可见其影响并不明显,故选取甲醇浓度为 70%;在 65、70、75℃ 的浸提温度梯度内,综合考虑各组分浸出量变化结果,选取浸提温度为 65℃;浸提时间从 40 min 延长至 50 min,没食子酸和可可碱在浸提溶剂中的含量分别相对持平,故选取浸提时间为 40 min;单独考虑 1 g : 25 mL 到 1 g : 35 mL 料液比的变化,没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量变化很小,且可可碱、EGC、EGCG 在料液比为 1 g : 30 mL 时取得较高浸出量,故最终考虑选取料液比为 1 g : 30 mL。综合考虑选择浸提的最佳工艺组合为  $A_1B_1C_2D_2$ ,即甲醇浓度 70%,浸提温度 65℃,浸提时间 40 min,料液比 1 g : 30 mL。

### 2.4 样品验证试验

对确定的最优浸提条件,即甲醇浓度为 70%、浸提温度为 65℃、浸提时间为 40 min、料液比为 1 g : 30 mL,进行验证试验,测得没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量分别为  $(1.58 \pm 0.06)$ 、 $(48.62 \pm 1.03)$ 、 $(20.31 \pm 0.56)$ 、 $(44.36 \pm 0.67)$ 、 $(136.28 \pm 1.32)$  mg/g。在优化工艺条件下,凤冈绿茶中没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的综合提取率相对较高。张俊英等的研究表明浸提凤冈锌硒茶时甲醇浓度优化结果为 70%,这与本研究部分结果<sup>[22]</sup>相吻合。

### 2.5 方法学考察

由表 5 可以看出,对于精密度考察,HPLC 检测凤冈绿茶中没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的相对标准偏差 (RSD) 分别为 0.5%、0.4%、0.8%、0.4%、0.5%,符合国标 GB 5009.12—2017 中规定的精密度要求<sup>[26]</sup>。对于重复性的考察,没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的相对标准偏差分别为 0.6%、1.3%、1.6%、1.6%、1.2%,表明此方法有较好的重复性。对于回收率的考察,没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的相对标准偏差分别为 0.6%、1.5%、1.8%、2.3%、2.3%,表明此方法有较高的准确性。精密度、重复性和回收率的

表 4 正交试验设计及结果

试验编号	A	B	C	D	浸出量(mg/g)				
					没食子酸( $Y_1$ )	咖啡因( $Y_2$ )	可可碱( $Y_3$ )	EGC( $Y_4$ )	EGCG( $Y_5$ )
1	1	1	2	3	1.43 ± 0.04a	48.54 ± 1.78a	20.79 ± 0.31a	44.53 ± 0.56a	134.96 ± 0.81a
2	1	2	3	1	1.57 ± 0.06a	47.63 ± 2.37a	19.58 ± 0.31a	43.27 ± 0.78a	132.18 ± 1.63a
3	1	3	1	2	1.75 ± 0.08b	46.36 ± 1.16a	19.46 ± 0.26a	41.19 ± 1.05a	134.85 ± 1.16a
4	2	1	3	2	1.61 ± 0.05a	43.45 ± 0.75b	18.65 ± 0.53a	40.28 ± 1.17a	133.76 ± 2.06a
5	2	2	2	1	1.62 ± 0.04a	47.11 ± 0.78a	16.49 ± 0.28b	37.76 ± 0.69b	135.58 ± 1.95a
6	2	3	1	3	1.62 ± 0.09a	45.65 ± 1.23b	15.52 ± 0.07b	36.59 ± 0.76b	130.29 ± 1.88a
7	3	1	1	2	1.48 ± 0.08b	43.51 ± 1.15a	16.69 ± 0.28a	39.12 ± 1.13a	133.35 ± 1.36a
8	3	2	2	3	1.56 ± 0.06a	45.88 ± 0.43a	17.11 ± 0.25a	39.03 ± 0.85a	132.48 ± 0.38a
9	3	3	3	1	1.71 ± 0.08b	46.39 ± 0.72a	17.28 ± 0.33a	37.36 ± 0.77b	128.39 ± 0.73b
$Y_1$	$K_1$	4.75	4.52	4.85	4.90				
	$K_2$	4.85	4.75	4.61	4.84				
	$K_3$	4.75	5.08	4.89	4.61				
	$R$	0.10	0.50	0.22	0.23				
$Y_2$	$K_1$	142.53	135.50	135.52	141.13				
	$K_2$	136.21	140.62	141.53	133.32				
	$K_3$	135.78	138.40	137.47	140.07				
	$R$	6.75	5.12	6.01	7.81				
$Y_3$	$K_1$	59.83	56.13	51.67	53.35				
	$K_2$	50.66	53.18	54.39	54.80				
	$K_3$	51.08	52.26	55.51	53.42				
	$R$	9.17	3.87	3.84	1.45				
$Y_4$	$K_1$	128.99	123.93	116.90	118.39				
	$K_2$	114.63	120.06	121.32	120.59				
	$K_3$	115.51	115.14	120.91	120.15				
	$R$	14.36	8.79	4.42	2.20				
$Y_5$	$K_1$	401.99	402.07	398.49	396.15				
	$K_2$	399.63	400.24	403.02	401.96				
	$K_3$	394.22	393.53	394.33	397.73				
	$R$	7.77	8.54	8.69	5.81				

注:同列数据后不同小写字母表示检验后差异显著( $P < 0.05$ )。

表 5 方法学考察

组分	相对标准偏差(%)		
	精密度	重复性	回收率
没食子酸	0.5 ± 0.01	0.6 ± 0.02	0.6 ± 0.02
咖啡因	0.4 ± 0.02	1.3 ± 0.01	1.5 ± 0.03
可可碱	0.8 ± 0.01	1.6 ± 0.02	1.8 ± 0.04
EGC	0.4 ± 0.02	1.6 ± 0.01	2.3 ± 0.03
EGCG	0.5 ± 0.02	1.2 ± 0.01	2.3 ± 0.05

$RSD$  均小于 5%,表明仪器精密度良好,方法重复性好,结果准确性高<sup>[22]</sup>。

3 结论

本研究在单因素试验的基础上,采用  $L_9(3^4)$  正

交试验设计对凤冈绿茶中没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的提取工艺条件进行了优化,确定凤冈绿茶中没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的最佳浸提工艺参数:甲醇浓度为 70%、浸提温度为 65 ℃、浸提时间为 40 min、料液比为 1 g : 30 mL。在此优化工艺条件下,HPLC 测得没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 的浸出量分别为  $(1.58 \pm 0.06)$ 、 $(48.62 \pm 1.03)$ 、 $(20.31 \pm 0.56)$ 、 $(44.36 \pm 0.67)$ 、 $(136.28 \pm 1.32)$  mg/g。该结果表明,通过对其提取工艺条件进行优化,相比较凤冈锌硒茶<sup>[22]</sup>,凤冈绿茶中没食子酸、咖啡因、可可碱、EGC、EGCG 溶出更彻底。精密度、重复性和回收率的  $RSD$  均小于 5%,表示该方法测定效果良好,结果准

确有效,可为更全面地反映凤冈绿茶品质提供一定的数据基础,同时为进一步研究相关茶保健品提供理论依据,对提高凤冈绿茶的利用率具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1]赵磊,高民,马燕芬. 茶多酚的抗氧化作用及其机制[J]. 动物营养学报,2017,29(6):1861-1865.
- [2]Yang C S, Li G X, Yang Z H, et al. Cancer prevention by tocopherols and tea polyphenol[J]. Cancer Letters, 2013, 334(1):79-85.
- [3]王琳. 茶叶中有效生化成分高效液相色谱检测法的建立及其在凤凰乌龙茶检测中的应用[D]. 南京:南京农业大学, 2010.
- [4]Singh B N, Shankar S, Srivastava R K. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications[J]. Biochemical Pharmacology, 2011, 82(12):1807-1821.
- [5]郭俊凌,李成亮,郑怡萌,等. 茶叶中没食子酸含量测定的离子化萃取分离分光光度法研究[J]. 食品科学, 2010, 31(4):150-155.
- [6]马存强,周斌星,王洪振,等. 普洱茶渥堆发酵中可降解咖啡碱真菌菌株的筛选和鉴定[J]. 茶叶科学, 2017, 37(2):211-219.
- [7]Heckman M, Weil J, Gonzalez D E. Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters[J]. Journal of Food Science, 2010, 75(3):R77-R87.
- [8]李海霞,陈榕,周丹,等. 咖啡因的合成及其药理作用的研究进展[J]. 华西药学杂志, 2011, 26(2):182-187.
- [9]李媛,林青. 茶碱类药物的研究进展及应用[J]. 中国医药指南, 2013, 11(4):421-422.
- [10]涂小珂,梁宏,吴凤琪,等. 超高效液相色谱法同时测定茶叶中儿茶素、酚酸及生物碱[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(16):3167-3169.
- [11]王伟,季晓晖,李秀峰,等. HPLC 法同时测定茶叶中多酚、咖啡因和维生素 C[J]. 分析实验室, 2014, 33(12):1443-1446.
- [12]高俊,夏涛,朱博,等. HPLC-PDA 对茶叶中茶氨酸、儿茶素和生物碱的同时分离检测研究[J]. 安徽农业大学学报, 2008, 35(3):324-328.
- [13]凌云,赵云峰,李志军,等. 茶叶及茶饮料中儿茶素和咖啡因的多组分 HPLC 分析方法[J]. 卫生研究, 2005, 34(2):187-190.
- [14]李银花,李娟,龚雪,等. 高效液相色谱法同时测定茶叶中 8 种儿茶素、3 种嘌呤碱和没食子酸[J]. 食品科学, 2011, 32(18):214-217.
- [15]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.
- [16]彭静,孙威江. 茶汤中儿茶素与生物碱测定的 HPLC 法及其优化[J]. 南方农业, 2017, 11(13):1-6.
- [17]王丽丽,陈键,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.
- [18]马海建,王利娟,江晨舟,等. 固相萃取-高效液相色谱法测定保健食品中 8 种皂苷化合物含量[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(3):743-750.
- [19]李赛君. 湖南武陵山片区优质茶叶产业建设的思考[J]. 茶叶通讯, 2013, 40(2):24-26.
- [20]彭福元. 武陵山区宜茶的农业地质背景分析[J]. 湖南农业科学, 2006(3):55-56.
- [21]常硕其,张亚莲,李赛君,等. 优质绿茶生产的理论与实践 II 优质绿茶品种[J]. 茶叶通讯, 2008, 35(3):16-20.
- [22]张俊英,冯发青,李霞,等. HPLC 法对凤冈锌硒茶中九种品质成分的同时测定[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(17):4175-4178.
- [23]中华全国供销合作社总社杭州茶叶研究院. 茶咖啡碱测定: BG/T 8312—2013 [S]. 北京:中国标准出版社, 2013.
- [24]中华全国供销合作社总社杭州茶叶研究院. 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法: BG/T 8313—2008 [S]. 北京:中国标准出版社, 2008.
- [25]郑琳,高世伟. 道泉雅女茶中茶多酚和 EGCG 的提取工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(33):133-136.
- [26]中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中铅的测定: GB/T 5009.12—2017 [S]. 北京:中国标准出版社, 2017.