

基于高效液相色谱的西湖龙井茶鉴别方法

赵明明¹, 周有祥¹, 金 钰², 胡定金¹, 严 伟¹

(1.湖北省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 武汉 430064; 2.华中农业大学食品科学技术学院, 武汉 430070)

摘要:通过高效液相色谱法分析 50 份龙井茶叶样品中 21 个特征峰, 利用主成分分析, 建立区分西湖龙井(XHLJ)与非西湖区龙井茶(NXHLJ)的方法。结果表明, 通过主成分分析, 提取出 3 个主成分, 累计贡献率为 91.3%, 21 个特征峰中 EGCG 和 CAF 的影响因素相对较大。

关键词:西湖龙井茶; 高效液相色谱; 主成分分析; 产地鉴别

中图分类号: S571.1; Q946.84⁺1

文献标识码: A

文章编号: 0439-8114(2016)21-5628-03

DOI: 10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2016.21.049

Identification Method of Xihu Longjing Tea Based on HPLC

ZHAO Ming-ming¹, ZHOU You-xiang¹, JIN Yu², HU Ding-jin¹, YAN Wei¹

(1. Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agro-Products, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China;

2. College of Food Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The contents of 21 characteristic peaks in 50 Longjing tea samples were measured by high-performance liquid chromatography(HPLC). Then the method for distinguishing Xihu Longjing(XHLJ) and non-Xihu Longjing(NXHLJ) was established based on principal component analysis (PCA). The results showed that 3 principal components could be extracted through principal component analysis, the cumulative contribution rate was 91.3%, and the most important factors in the 21 characteristic peaks were EGCG and CAF.

Key words: Xihu Longjing tea; high-performance liquid chromatography; principal component analysis; origin identification

西湖龙井是中国十大名茶之一, 因产于杭州西湖而得名。由于其独特的滋味以及悠久的历史背景, 西湖龙井广受中外消费者的喜爱。2008 年中国出台标准明确规定龙井茶的品种与产地, 针对西湖龙井也有严格的区域划分^[1]。由于产地的局限, 西湖龙井在市场上供不应求, 部分销售者以假当真、以次充好, 尤其是以其他茶区龙井假冒西湖产区龙井。前期试验研究了基于氨基酸特征分析的西湖龙井茶鉴别^[2], 能初步区分西湖区与非西湖区的龙井。本研究通过高效液相色谱法进一步分析西湖龙井茶特征峰, 以建立高效准确区分西湖龙井与非西湖龙井的方法。

进行茶叶品种鉴别、产地追溯, 可以利用近红外、色谱、质谱等分析技术分析茶叶成分中的特征峰, 再结合多种统计分析方法, 如主成分分析、判别分析、聚类分析等^[3-5], 建立有效的区分方法。茶多酚

是绿茶中多酚类物质的总称, 包括黄烷醇类、花色苷类、黄酮类、黄酮醇类和酚酸类等, 以儿茶素为主的黄烷醇类化合物占茶多酚总量的 60%~80%, 是茶叶苦涩味的来源之一。儿茶素中含量较高的几种组分为表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)、表没食子酸儿茶素(EGC)、表儿茶素(EC)、儿茶素(C), 尤其是 EGCG^[6,7]。本研究以茶叶中的有效化学成分, 主要是茶多酚与咖啡因(CAF)为对象, 通过高效液相色谱方法分析来自不同区域的龙井茶叶样品, 以期实现西湖龙井茶叶产地溯源。

1 材料与方法

1.1 材料

共采集样品 50 个, 其中 28 个采自龙井茶西湖产区(编号为 LJ), 22 个采自非龙井产区(13 个样品

收稿日期: 2016-09-14

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(S201203046); 湖北省农业科学院青年科学基金项目(2012NKYJJ18; 2013NKYJJ20)

作者简介: 赵明明(1987-), 女, 湖北武汉人, 助理研究员, 主要从事食品安全和品质分析研究, (电话)027-87389736(电子信箱)hdzmm@163.com; 通信作者, 严 伟(1981-), 女, 副研究员, (电话)027-87389765(电子信箱)yanwei75126@163.com。

来自 R1 区, 编号为 R1LJ; 9 个来自 R2 区, 编号为 R2LJ)。所有茶均为扁形茶, 具备龙井的表现特征, 粉碎后过 20 目筛, 密封保存。表没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯、表没食子酸儿茶素、表儿茶素、儿茶素和咖啡因标准品购自美国 Sigma 公司。

1.2 仪器与试剂

Waters 2695-2998 HPLC 系统(美国, Waters 公司)、离心机等仪器; SPSS、SIMCA-P⁺、R studio 软件; 甲醇、磷酸等试剂。

1.3 方法

1.3.1 样品测定 称量 100 mg 均匀磨碎的样品于 10 mL 离心管内, 加入 5 mL 80 ℃ 水, 于振荡仪上振荡混匀, 放入 80 ℃ 水中水浴 10 min, 20 000 r/min 离心 2 min, 所得上清过 0.22 μm 滤膜, 待测。

1.3.2 标准溶液的配制 精确称量 EGCG、ECG、EGC、EC、C 和 CAF, 溶于 70% 甲醇溶液中, 工作液浓度约为 100 μg/mL。

1.3.3 色谱条件 色谱柱为 inertsil ODS-4 C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温 30 ℃; 流速 0.8 mL/min; 流动相甲醇-0.01% 磷酸溶液(V/V), 20%~40% 甲醇梯度洗脱 25 min; 检测波长 274 nm。

1.3.4 数据处理 样品经高效液相色谱分析得到 21 个特征峰, 通过与标准品的比较确认 EGCG、ECG、EGC、EC、C、CAF。21 个峰在进行统计分析前经过标准化处理, 将绝对峰面积进行归一化处理, 构建数据库。采用 SPSS 软件进行样品的叙述性统计和主成分分析。

2 结果与分析

2.1 高效液相色谱分析结果

样品经过高效液相色谱分析得到色谱(图 1), 检测波长 274 nm。经标准品定性定量分析, 确定其中 6 个峰分别为 EGCG、ECG、EGC、EC、C 和 CAF, 其中 EGCG 和 CAF 含量较高。通过 SPSS 软件分别

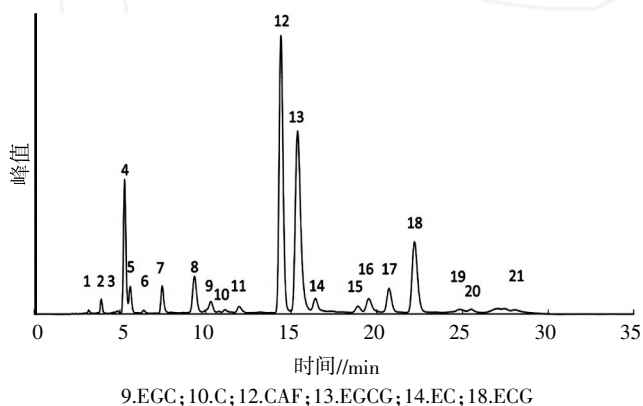


图 1 茶叶样品高效液相色谱

对来自不同区域的样品数据进行描述性统计分析(图 2), 不同区域之间 EGCG 和 CAF 的相对关系不同, 西湖龙井的 EGCG 和 CAF 的相对含量更为接近。为了进一步找到西湖区与非西湖区龙井的差异, 选取主成分分析法对数据进一步分析。

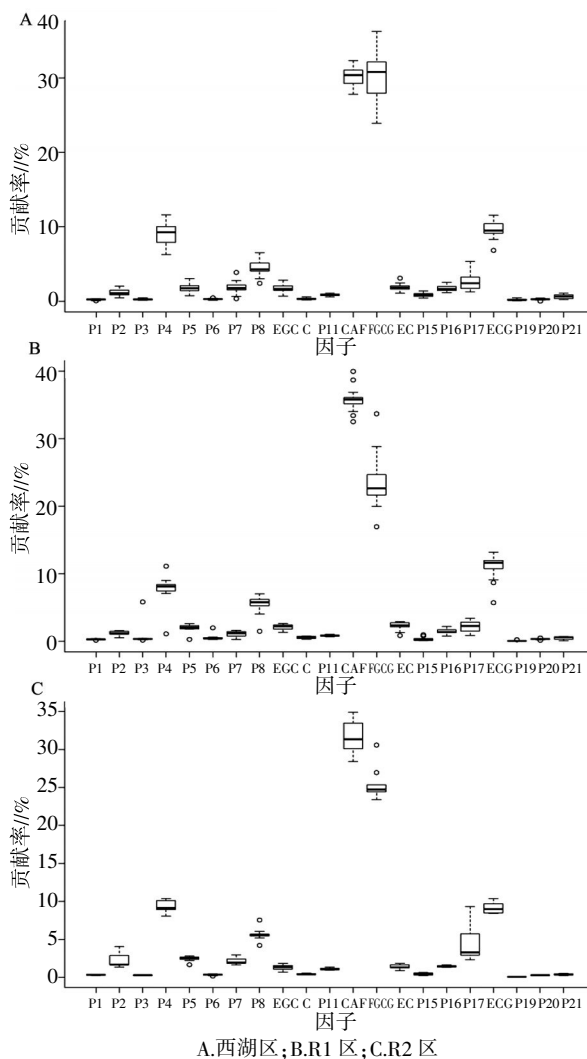


图 2 50 个茶叶样品特征峰的统计

2.2 主成分分析

主成分分析是一种多元统计分析方法, 能有效提取特定数据库中的重要变量。对 50 个样本的 21 个特征峰进行主成分分析, 区分西湖区与非西湖区龙井的效果不明显。由于茶多酚和咖啡因不仅是绿茶中主要的营养成分, 也是不同茶叶产品的参考标志物^[7], 所以选取 21 个特征峰中经过定性的 EGCG、ECG、EGC、EC、C 和 CAF 相对峰面积作为变量, 进行主成分分析, 结果见图 3。提取 3 个主成分, 见图 3A, 累计贡献率为 91.3%, 其中第一主成分(PC1)贡献率为 55.4%。50 个样品大致分为 3 个区域, 西湖区(XHU)、R1 区(R1U)、R2 区(R2U)。从图 3B 中可以发现, 在第一主成分(PC1)的构成中, 影响较大的因子为 EGCG; 在第二主成分(PC2)的构成中, 影响

较大的因子为 CAF 和 EGC;所有因子中,对分区影响较大的为 EGCG,其次是 CAF 和 EGC。

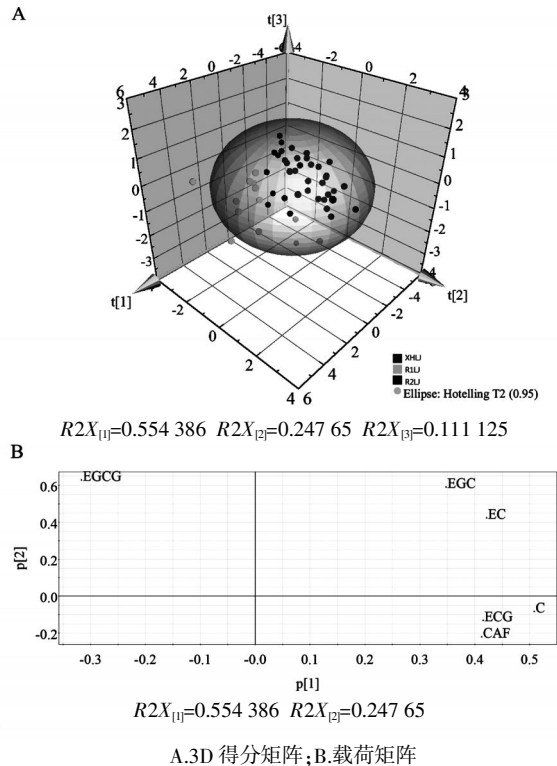


图3 龙井茶叶样品主成分分析

3 小结与讨论

成茶的品质特征与较多因素相关,如生长环境、收获时间和加工方式等,其中地理环境是重要

(上接第 5597 页)

用多年,有着广泛的民间用药基础。本试验在单因素试验的基础上,运用正交试验对影响别克参多糖提取率的因素进行了考察,由结果可知,各因素对别克参多糖提取率的影响顺序为提取次数>提取料液比>提取温度>提取时间;别克参多糖的最佳提取条件为料液比 1:40、提取温度 70℃、提取时间 5 h,取次数 3 次。在该工艺下,别克参多糖的提取率最高为 41.893 1%。

别克参多糖体外抗氧化研究表明,别克参多糖对 ABTS⁺、DPPH[·]、羟自由基均有一定的清除能力,但清除能力均低于维生素 C。

参考文献:

- [1] 陈春丽,田兰,勉强辉,等.别克参提取物抗氧化活性研究[J].中国药房,2013(47):4425-4428.
- [2] 古丽江·贾曼拜,何春霞,古力西拉·沙菩西,等.新疆猪牙花生物学特性研究[J].新疆林业,2012(2):17-19.
- [3] 陈春丽,余志银,严丹,等.新疆哈萨克民间药材别克参化学成分预实验[J].时珍国医国药,2014(5):1095-1097.
- [4] 赵雪迎,丁克俭,胡进维,等.植物多糖的研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2008,10(3):140-141.
- [5] 冉靓,杨小生,王伯初,等.抗氧化多糖的研究进展[J].时珍国

医的因素^[8,9]。本试验以茶多酚和咖啡因为主要对象,利用高效液相色谱法研究不同来源区域的龙井茶之间是否有明显差异。试验结果表明,高效液相色谱法结合主成分分析统计方法,可以在一定程度上区分不同区域的龙井茶,效果优于以水解氨基酸为研究对象建立的区分方法^[2],并且找到特征峰 EGCG 和 CAF。

参考文献:

- [1] GB/T18650-2008,地理标志产品 龙井茶[S].
- [2] 赵明明,金钰,胡筱波,等.基于氨基酸特征分析的西湖龙井茶鉴别方法研究[J].湖北农业科学,2015,54(24):6369-6371.
- [3] 王丽鸳,成浩,贺巍,等.不同产区龙井茶相似性及线性判别[J].浙江林业科技,2014(2):18-23.
- [4] 何昱,洪筱坤,王智华.33批茶多酚高效液相色谱指纹图谱的质量控制研究[J].中国药学杂志,2006(2):139-143.
- [5] HE W,ZHOU J,CHENG H,et al.Validation of origins of tea samples using partial least squares analysis and Euclidean distance method with near-infrared spectroscopy data[J].Spectrochimica Acta Part A:Molecular and Biomolecular Spectroscopy,2012,86(1):399-404.
- [6] KANWAR J,TASKEEN M,MOHAMMAD I,et al. Recent advances on tea polyphenols[J].Frontiers in Bioscience,2012,4(4):111-131.
- [7] SENANAYAKE S N. Green tea extract: Chemistry,antioxidant properties and food applications-A review[J].Journal of Functional Foods,2013,5(4):1529-1541.
- [8] LIN J,ZHANG P,PAN Z,et al. Discrimination of oolong tea (*Camellia sinensis*) varieties based on feature extraction and selection from aromatic profiles analysed by HS-SPME/GC-MS[J].Food Chemistry,2013,141(1):2592-2595.
- [9] WANG L,WEI K,CHENG H,et al. Geographical tracing of Xihu Longjing tea using high performance liquid chromatography[J].Food Chemistry,2014,146(1):98-103.

- [10] 焦连庆,于敏,焦莹,等.树舌多糖的分离纯化、理化性质及抗炎镇痛活性研究[J].中国药师,2010,13(5):615-617.
- [11] 王健,龚兴国.多糖的抗肿瘤及免疫调节研究进展[J].中国生化药物杂志,2001,22(1):52-54.
- [12] 王圆.红豆杉多糖的提取、纯化及性质研究[D].杭州:浙江工业大学,2005.
- [13] 申利红,王建森,李雅,等.植物多糖的研究及应用进展[J].中国农学通报,2011,27(2):349-352.
- [14] 韩光亮,李翠梅,EDUARDO CACACE,等.改良的 ABTS⁺法及其在优化抗氧化活性物质提取中的应用[J].卫生研究,2004,33(5):620-622.
- [15] 邱金东,汤昆.DPPH 和 ABTS 法测定核桃仁的体外抗氧化活性[J].中成药,2008,30(8):1215-1216.
- [16] 钱力,陈华妮,劳玲玲,等.野生酸荔枝核中多糖的提取及其抗氧化活性[J].湖北农业科学,2014,53(20):4949-4951.
- [17] 霍丽妮,陈睿,廖艳芳,等.黄皮桑寄生不同极性溶剂提取物抗氧化能力研究[J].湖北农业科学,2014,53(11):2631-2633.
- [18] 王冬冬,陈雪红,曹冬梅,等.微生物法提取马齿苋和银杏叶黄酮及其抗氧化活性研究[J].湖北农业科学,2015,54(6):1455-1457.
- [19] 李顺峰,张丽华,付娟妮,等.真姬菇子实体多糖体外抗氧化特性研究[J].西北农业学报,2008,17(4):302-305.
- [20] 魏丕伟,熊俐,王凌云,等.枳椇多糖体外抗氧化活性研究[J].江苏农业科学,2014(7):316-318,319.