

“紫娟”茶中的 EGCG3"Me 成分研究

吕海鹏¹, 杨婷^{1,2}, 梁名志³, 王立波³, 张悦¹, 林智¹

(1. 农业部茶树生物学与资源利用重点实验室, 中国农业科学院茶叶研究所 浙江杭州 310008)

(2. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081) (3. 云南农业科学院茶叶研究所, 云南勐海 666201)

摘要:“紫娟”是云南大叶群体种中的一种稀有茶树品种, 因富含花青素成分其新鲜嫩梢的芽、叶、茎均呈现紫色, 从而具有很高的科研价值和经济开发潜力, 当今其功能化学成分的研究已成为了茶学研究热点之一。本文采用 HPLC 以及 LC-MS 技术首次报道分析了茶树特异品种“紫娟”中的表没食子儿茶素-3-O-(3-O-甲基)没食子酸酯(EGCG3"Me)成分及高 EGCG3"Me 含量“紫娟”茶的加工工艺。结果表明, 茶树特异品种“紫娟”鲜叶中含有 EGCG3"Me 成分(含量为 1.05%); 在一芽五叶新梢不同嫩度的鲜叶中, 第三叶的 EGCG3"Me 含量最高(含量为 1.24%); 采用蒸青绿茶或者晒青绿茶的加工工艺可以使成茶有效保留鲜叶中的 EGCG3"Me 成分。此外, 还分析比较了普通炒青绿茶与“紫娟”绿茶中主要儿茶素成分的含量差异, 发现较高的 ECG 和 EC 含量而较低的 EGCG 含量是茶树特异品种“紫娟”绿茶中儿茶素组成的主要特点。

关键词:“紫娟”; 儿茶素; EGCG3"Me; 加工工艺

文章编号: 1673-9078(2014)9-286-289

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.09.047

Study of EGCG3"Me Content in Zijuan Tea

LV Hai-peng¹, YANG Ting^{1,2}, LIANG Ming-zhi³, WANG Li-bo³, ZHANG Yue¹, LIN Zhi¹

(1. Key Lab of Tea Biology and Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008, China) (2. Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China) (3. Tea Research Institute, the Academy of Agricultural Sciences of Yunnan, Menghai 666201, China)

Abstract: Zijuan is a unique tea variety from Yunnan Daye tea [*Camelliasinensis* var. *assamica* (Mast.) Kitamura]. The bud, leaf, and stem of the fresh Zijuan tea shoot appear purple because they are rich in anthocyanins. The functional components of Zijuan tea have attracted significant attention worldwide in the field of tea science, due to its scientific value and economic potential. The composition of 3"-methyl-epigallocatechin gallate (EGCG3"Me) in Zijuan tea was detected by HPLC and LC-MS and its processing technology were analyzed. The results showed that the content of EGCG3"Me in fresh leaves was 1.05%; meanwhile, the highest EGCG3"Me was observed in the third leaf (1.24%) among the leaves of young shoots with a bud and five leaves. Processing methods such as steaming green tea or sun-drying green tea did not affect the EGCG3"Me content in the tea leaves. Moreover, higher epicatechin gallate and epicatechin contents and lower epigallocatechin gallate content were found in the tea catechins of Zijuan as compared to normal roasted green tea.

Key words: Zijuan tea; catechin; 3"-Methyl-epigallocatechin gallate; processing technique

“紫娟”(图 1)是云南省茶叶研究所科技人员于 1985 年发现的一株芽、叶、茎都为紫色的茶树单株基础上选育而成的^[1], 因该茶树具有紫芽、紫叶、紫茎, 并且所制烘青绿茶干茶和茶汤皆为紫色, 特取名为“紫娟”。近年来, “紫娟”的化学成分研究已成

收稿日期: 2014-04-16

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-23); 农业部茶与饮料植物产品加工与质量控制重点开放实验室开放基金(2010K1001)

作者简介: 吕海鹏(1980-), 男, 博士, 副研究员, 主要从事茶叶加工品质化学研究

通讯作者: 林智(1965-), 男, 博士, 研究员, 主要从事茶叶加工品质化学研究

为茶学研究中的热点之一, 现有研究已分析报道了“紫娟”茶中的一些主要生化成分^[2-6], 如花青素成分、儿茶素成分、黄酮类成分、氨基酸及微量元素、香气成分和色素成分等; 与此同时, 科研工作者也一直在积极分析和探寻“紫娟”茶中的生物活性成分^[7], 例如降压活性物质, 动物试验已经证实“紫娟”茶的降压活性优于云南大叶群体种茶^[1]。“紫娟”茶鲜叶因富含花青素成分^[8-9]而呈现紫色是其重要的特色, 从而展现出了较大的经济开发价值。

表没食子儿茶素-3-O-(3-O-甲基)没食子酸酯(EGCG3"Me)是一种甲基化的 EGCG 成分, 研究表明其具有显著的抗过敏、消炎以及降血压效果, 且效

果明显强于 EGCG^[10-11]。由于甲基化 EGCG 含有甲基, 整个分子呈脂溶性增加的状态, 因此它的消化吸收比正常的儿茶素要高, 生物利用度也明显提高。在笔者所在研究团队前期开展的研究中发现, 茶树特异品种“紫娟”的茶鲜叶中可能存在较高含量的 EGCG3"Me 成分, 而目前尚无相关研究报道。因此, 本文在前期基础上进一步采用 HPLC 和 LC-MS 技术对“紫娟”茶中的 EGCG3"Me 成分及其加工特性进行研究, 以期为该特异茶树品种中新的生物活性成分的开发利用研究奠定初步基础, 为进一步深入认识其化学成分及保健功效提供一定的科学借鉴。



图1 茶树特异品种“紫娟”

Fig.1 The special tea germplasm of Zijuan

1 材料与方法

1.1 材料

“紫娟”绿茶(蒸青绿茶、烘青绿茶、炒青绿茶和晒青绿茶)、“紫娟”红茶、“紫娟”乌龙茶和“紫娟”白茶以及不同成熟度叶片(微波样)样品, 在云南省农业科学院茶叶研究所制备; 普通炒青绿茶(杭州龙冠实业有限公司)。EGCG、ECG 等儿茶素标准品, 购买自 Sigma 公司; EGCG3"Me 标准样品, 由日本太阳化学株式会社提供; 乙腈(HPLC 级)、冰乙酸、甲酸(AT 级)、水为超纯水。

1.2 方法

1.2.1 EGCG3"Me 成分的鉴定与分析

HPLC 分析条件: 高效液相色谱仪(Waters 2489-2690); 色谱柱: Waters SunfireC18, 5 μm , 4.6 mm \times 250 mm; 流动相 A 为 2%冰乙酸+0.1%甲酸+1 mmol 甲酸铵, 流动相 B 为乙腈+0.1%甲酸+1 mmol 甲酸铵; 流速为 1 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 280 nm; 进样量 10 μL ; 梯度洗脱, 流动相 B 在 25 min 内由 12%线性梯度变化到 25%, 25.5 min 回到初始状态, 平衡 10 min。

质谱分析条件: 高效液相色谱质谱联用仪(Agilent LC/MSD Trap SL); 流速 0.3 mL/min; 毛细管温度 350 $^{\circ}\text{C}$; 喷雾电压 3.5 kV; 雾化气 30.0 psi; 干燥气流速 10.0 L/min; 数据采集范围 m/z100-600。

定量分析根据参考文献^[12]中的方法开展。

1.2.2 儿茶素成分的分析

儿茶素分析根据参考文献^[13]中的方法开展。

1.3 数据统计分析

采用 SPSS 17.0 数据处理软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 “紫娟”茶中 EGCG3"Me 的鉴定与分析

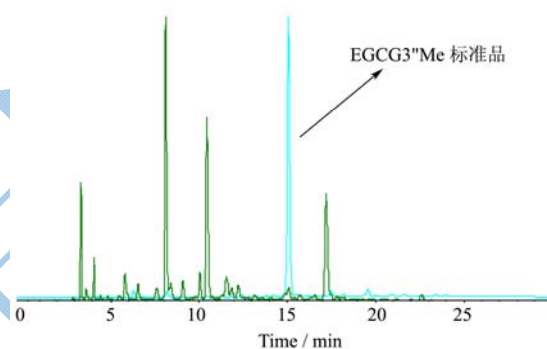


图2 “紫娟”茶儿茶素和 EGCG3"Me 标准品的 HPLC 图谱

Fig.2 HPLC chromatogram of Zijuan tea catechins and EGCG3"Me standards

“紫娟”茶儿茶素和 EGCG3"Me 标准品的 HPLC 图谱如图 2 所示。从图 2 可以看出, “紫娟”茶儿茶素成分 HPLC 分析图谱中 15.1 min 的色谱峰与 EGCG3"Me 标准品的色谱峰基本重合, 初步判定“紫娟”茶 15.1 min 的色谱峰可能是 EGCG3"Me 成分; 进而对 15.1 min 的色谱峰进行质谱分析(图 3)。从图 3 可以看出“紫娟”茶中 15.1 min 的色谱峰与 EGCG3"Me 标准品的色谱峰在正离子模式下具有相同的二级质谱特征离子, 如 m/z 473.2 和 m/z 289.0 等, 在进一步结合 EGCG3"Me 的质谱裂解途径等^[4], 所以可以确认“紫娟”茶中 15.1 min 的色谱峰是 EGCG3"Me 成分。在此基础上, 采用 HPLC 外标法测定了“紫娟”茶中 EGCG3"Me 含量; 结果表明, “紫娟”茶样品中 EGCG3"Me 的含量为 1.05%。

2.2 “紫娟”茶不同成熟度叶片中 EGCG3"Me

的含量

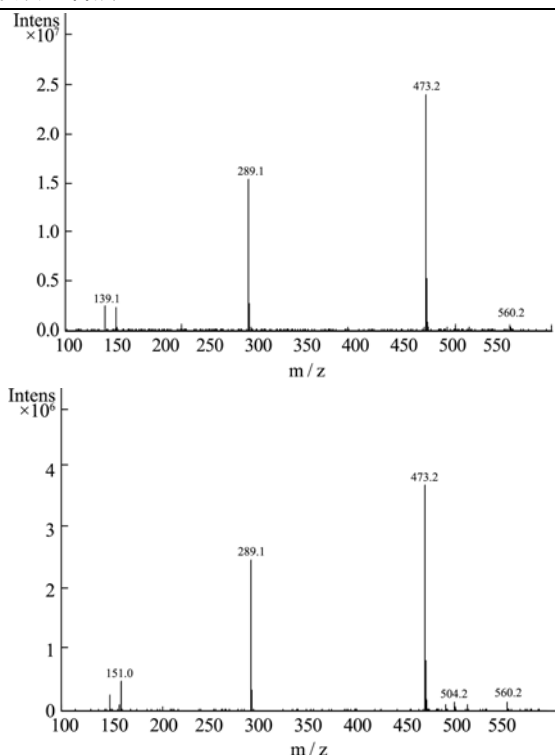


图3 “紫娟”茶中儿茶素组分和EGCG3"Me标准品的LC-MS图

Fig.3 LC-MS chromatogram map of Zijuan tea catechins and EGCG3"Me standards

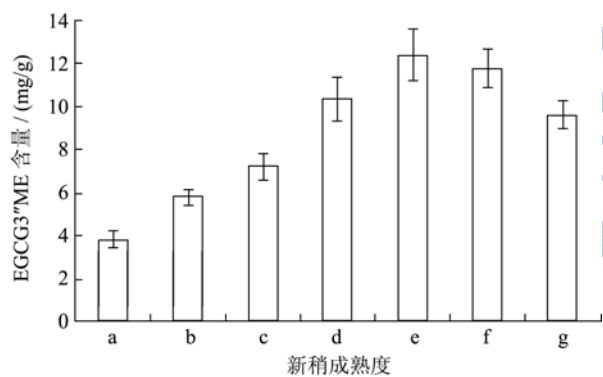


图4 “紫娟”不同成熟度茶梢中EGCG3"Me含量的差异

Fig.4 EGCG3"Me content in tea leaves at different developing stages

注: a-茎梗; b-芽头; c-第一叶; d-第二叶; e-第三叶; f-第四叶; g-第五叶。

“紫娟”茶不同成熟度叶片中EGCG3"Me的含量如图4所示。从图4可以看出,随着叶片成熟度的增加,“紫娟”茶鲜叶中EGCG3"Me的含量有增加的趋势,在第三叶和第四叶中含量较高(分别为1.24%和1.18%),而茎梗中的含量较低(0.38%)。统计分析表明,第三叶和第四叶中EGCG3"Me的含量都显著高于第一叶和第二叶($p < 0.05$)。可见,制作高EGCG3"Me含量的“紫娟”茶,宜选用成熟度较高的鲜叶作为原料,从本研究看来,一芽三、四叶的采摘标准较为适宜。

2.3 不同加工工艺对“紫娟”成茶中EGCG3"Me含量的影响

采用“紫娟”一芽三、四叶鲜叶原料,按照不同的加工工艺制作成绿茶(蒸青绿茶、烘青绿茶、炒青绿茶和晒青绿茶)、红茶、乌龙茶和白茶。不同加工工艺“紫娟”茶中EGCG3"Me的含量如图5所示。从图5可以看出,在不同茶类EGCG3"Me的含量上,绿茶>白茶>乌龙茶>红茶;红茶中EGCG3"Me的含量只有3.12 mg/g,约为乌龙茶中EGCG3"Me的含量的38.0%和白茶的33.8%;统计分析表明,红茶中的EGCG3"Me的含量明显低于绿茶、白茶和乌龙茶,达到极显著差异水平($p < 0.01$);此外,乌龙茶中的EGCG3"Me的含量显著低于白茶和绿茶,达到显著差异水平($p < 0.05$)。

4种不同类型绿茶中EGCG3"Me的含量上,蒸青绿茶>晒青绿茶>炒青绿茶>烘青绿茶。蒸青绿茶中EGCG3"Me的含量最高,为11.81 mg/g;统计分析表明,蒸青绿茶中EGCG3"Me的含量与晒青绿茶相比不存在显著性差异($p > 0.05$),而显著高于炒青绿茶和烘青绿茶($p < 0.05$)。

可见,制作高EGCG3"Me含量的“紫娟”茶,宜选用绿茶加工工艺,从本研究看来,采用蒸青绿茶和晒青绿茶的加工工艺较为适宜。

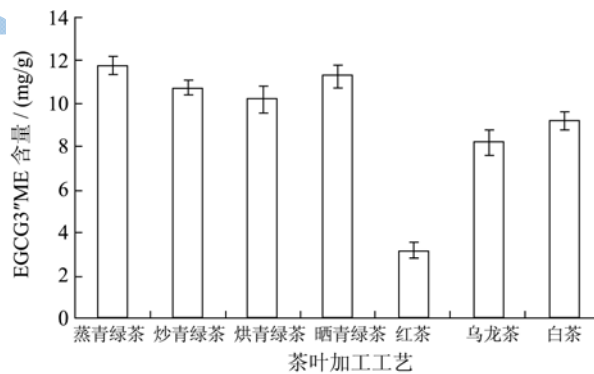


图5 不同加工工艺对“紫娟”成茶中EGCG3"Me含量的影响

Fig.5 Influence of different processing techniques on the EGCG3"Me content

2.4 “紫娟”茶中常规儿茶素成分的检测分析

采用HPLC对“紫娟”绿茶和普通炒青绿茶中的儿茶素成分进行了比较分析,结果如表1所示。从表1可以看出,茶树特异品种“紫娟”绿茶中DL-C(1.30%)、EC(3.01%)以及ECG(4.08%)的平均含量要明显高于对照炒青绿茶中相应儿茶素成分的含量(分别为0.28%、1.49%和1.72%),而“紫娟”中的EGC

(5.49%)和EGCG(6.47%)却明显低于对照炒青绿茶中相应儿茶素成分的含量(分别为6.37%和7.36%);此外,在儿茶素总量方面,“紫娟”绿茶中的儿茶素总量也高于对照炒青绿茶。因此,从总体上来看,较高的ECG和EC含量而较低的EGCG含量可能是茶树特异品种“紫娟”绿茶中儿茶素组成特点之一。

表1 “紫娟”绿茶和普通炒青绿茶中的儿茶素成分进行了比较分析

Table 1 Comparison of tea catechins in common roasted green tea and Zijuan green tea

儿茶素 /%	炒青对照 CK	蒸青 绿茶	炒青 绿茶	晒青 绿茶	烘青 绿茶
EGC	6.37±0.41	5.80±0.35	5.33±0.41	5.33±0.38	5.49±0.45
DL-C	0.28±0.12	1.29±0.23	1.24±0.18	1.14±0.12	1.53±0.22
EGCG	7.36±0.92	6.57±0.66	6.43±0.52	6.53±0.74	6.35±0.70
EC	1.49±0.26	2.87±0.41	3.36±0.24	2.95±0.29	3.00±0.34
GCG	0	0.07±0.03	0.13±0.02	0.04±0.01	0.23±0.06
ECG	1.72±0.09	4.14±0.51	4.13±0.36	4.15±0.28	3.91±0.24
总量	17.21±2.34	20.73±1.89	20.61±1.78	20.13±1.99	20.49±1.67

3 结论

3.1 本文从特异茶树种质“紫娟”中鉴定出了EGCG3"Me成分,并发现“紫娟”是富含EGCG3"Me的特异茶树种质(含量>1%)。由于甲基化EGCG含有甲基,整个分子呈脂溶性增加的状态,因此它的消化吸收比正常的儿茶素要高,生物利用率也明显提高。研究发现,EGCG3"Me具有显著的降血压效果,而且明显强于EGCG^[10]。在此基础上,结合以前研究报道中涉及的动物试验中所证实的“紫娟”茶降血压优于云南大叶群体种茶的研究结果^[1],在一定程度上可以推断“紫娟”茶中的EGCG3"Me可能起了关键作用;鉴于云南大叶群体种茶中一般不含有EGCG3"Me成分,因此,EGCG3"Me是特异茶树种质“紫娟”中的重要生物活性成分之一。

3.2 高EGCG3"Me“紫娟”茶的加工工艺方面,鉴于“紫娟”茶鲜叶中的EGCG3"Me成分在芽和嫩叶中含量很低,且采用红茶和乌龙茶的加工工艺会大幅度降低成茶中的EGCG3"Me含量,因此高EGCG3"Me“紫娟”茶的加工鲜叶宜选用一芽三、四叶的采摘标准,加工成蒸青绿茶或者晒青绿茶。

参考文献

- [1] 包云秀,夏丽飞,李友勇,等.茶树新品种紫娟[J].园艺学报,2008,35(6):934
BAO Yun-xiu, XIA Li-fei, LI You-yong, et al. A new tea tree

- cultivar ‘Zijuan’ [J]. Acta Horticulture Sinica, 2008, 35(6): 934
- [2] Jiang L, Shen X, Shoji T, et al. Characterization and activity of anthocyanins in Zijuan tea (*Camellia sinensis* var. *kitamura*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(13): 3306-3310
- [3] 姜东华,陈保,张怀志,等.不同加工工艺紫娟茶中氨基酸及微量元素的比较研究[J].现代食品科技,2013,29(4):872-875
JIANG Dong-hua, CHEN Bao, ZHANG Huai-zhi, et al. Comparison of amino acids and trace elements of four Zijuan tea processed with different methods [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(4): 872-875
- [4] 陈保,姜东华,罗发美,等.四种不同加工工艺紫娟茶香气成分的比较[J].现代食品科技,2013,29(10):2480-2486
CHEN Bao, JIANG Dong-hua, LUO Fa-mei, et al. Aroma components of Zijuan tea processed by four different methods [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(10): 2480-2486
- [5] Gong J, Zhang Q, Peng C, et al. Curie-point pyrolysis-gas chromatography-mass spectroscopic analysis of theabrownins from fermented Zijuan tea [J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2012, 97: 171-180
- [6] Wang Q, Peng C, Gao B, et al. Influence of large molecular polymeric pigments isolated from fermented Zijuan tea on the activity of key enzymes involved in lipid metabolism in rat [J]. Experimental gerontology, 2012, 47(9): 672-679
- [7] 李光涛,梁名志,汪云刚,等.云南特有茶树品种-紫娟研究进展[J].中国茶叶,2013(9):10-12
LI Guang-tao, LIANG Ming-zhi, WANG Yun-gang, et al. Research advance on the special tea tree cultivar ‘Zijuan’ [J]. Chinese Tea, 2013 (9): 10-12
- [8] A Degenhardt. Separation and purification of anthocyanins by High-speed countercurrent chromatography and screening for antioxidant activity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(2): 338-343
- [9] A Ovando, Ma de Lourdes Pacheco-Hernandez, Ma Elena Paez-Hernandez, et al. Chemical studies of anthocyanins: A review [J]. Food Chemistry, 2009, 113 (4): 859-871
- [10] Ikuko Kurita, Mari Maeda-Yamamoto, Hirofumi Tachibana, et al. Antihypertensive effect of Benifuuki tea containing O-Methylated EGCG [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(3): 1903-1908
- [11] Maeda-Yamamoto M. Effects of tea infusions of varieties or different manufacturing types on inhibition of mouse mast cell activation [J]. Biosci. Biotechnol. Biochem., 1998, 62(11): 2277- 2279

- [12] 孙业良,吕海鹏,林智,等.茶叶中EGCG3"Me的分析方法研究[J].茶叶科学,2009,29(5):379-384
Sun Ye-liang, LV Hai-peng, LIN Zhi, et al. Study on the analysis method of EGCG3"Me by HPLC in tea [J]. Tea Science, 2009, 29 (5): 379-384
- [13] 吕海鹏,林智,谷记平,等.茶叶儿茶素组分HPLC测定中的提取方法研究[J].食品与发酵工业,2007,33(6):76-79
LV Hai-peng, LIN Zhi, GU Ji-ping, et al. Study on methods of extracting catechins from tea for the composition analysis by HPLC [J]. Food and Fermentation Industries, 2007, 33(6): 76-79
- [14] 吕海鹏,费冬梅,张悦,等.EGCG-O-甲基转移酶(EOMT)催化EGCG形成的EGCG甲基化衍生物分析[J].茶叶科学, 2012, 32(2):100-106
LV Hai-peng, FEI Dong-mei, ZHANG Yue, et al. Analysis on the EGCG methylated derivatives produced from EGCG catalyzed by EGCG-O-methyltransferase [J]. Tea Science, 2012, 32(2): 100-106