

广东岭头单枞茶高效液相色谱 指纹图谱的研究

罗一帆^{1,2}, 郭振飞³, 许旋^{2,*}, 庞式⁵, 陈剑经⁴, 韩宝瑜¹

(1. 农业部茶叶化学工程重点开放实验室, 浙江 杭州 310008; 2. 华南师范大学化学与环境学院, 广东 广州 510630; 3. 华南农业大学生命科学院, 广东 广州 510624; 4. 中山大学肿瘤防治中心, 广东 广州 510089; 5. 广东省农业科学院茶叶研究所, 广东 广州 510640)

摘 要: 应用高效液相色谱方法研究了广东岭头单枞茶品种的指纹图谱, 根据其高效液相色谱中的相对保留时间、相对面积、共有峰、重叠率、八强峰及其相对总面积等对色谱指纹图谱进行了分析和对比研究, 建立了鉴定广东岭头单枞茶品种的色谱指纹图谱分析方法。结果表明, 该方法为茶叶品种的鉴定提供了较全面的信息, 为指纹图谱技术在茶叶品种和品质方面的研究提供新的途径。

关键词: 广东岭头单枞茶; 高效液相色谱; 色谱指纹图谱

Studies on High Performance Liquid Chromatographic Fingerprint of Lingtoudancong Oolong Tea

LUO Yi-fan^{1,2}, GUO Zhen-fei³, XU Xuan^{2,*}, PANG Shi⁵, CHEN Jian-jin⁴, HAN Bao-yu¹

(1. Key Laboratory of Tea Chemical Engineering of Ministry of Agriculture, Hangzhou 310008, China; 2. College of Chemistry and Environment, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; 3. College of Biotechnology, South China Agricultural University, Guangzhou 510624, China; 4. Cancer Center, Zhongshan University, Guangzhou 510089, China; 5. Tea Research Institute, Gongdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The chromatographic fingerprint of Lingtoudancong Oolong tea was studied by high performance liquid chromatography (HPLC). According to the relative retention value, the relative area, common peaks, and overlap rate, the eight strong peaks and their relative total area resultants in HPLC were assayed respectively. The chromatographic fingerprint of Lingtoudancong Oolong tea was analyzed and studied comparatively. The results showed that this method provided useful information for identification of tea variety, and a new way to study tea variety and quality by the chromatographic fingerprint was founded.

Key words: Lingtoudancong Oolong tea; high performance liquid chromatography; chromatographic fingerprint

中图分类号: TS272.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)04-0206-04

岭头白叶单枞茶系广东省饶平县坪溪乡岭头村于1961年在该村的风凰水仙品种茶园中发现的一种变异白叶单株, 后经过无数次的扦插繁殖及引种, 性状相当稳定。1980年由国家有关部门认定, 命名为岭头白叶单枞, 简称岭头单枞。该茶具有花香蜜味、味甘醇爽, 也有黄皮果韵, 饮后舒心爽神, 汤色橙黄明亮, 叶底笋黄色, 红边明亮, 是当今乌龙茶类的极品, 在粤港两地具较大影响^[1]。岭头白叶单枞茶是粤东山区的优良

品种, 是广东省重点推广的茶树品种, 各地已大面积栽种^[2]。目前除粤东山区大量栽植外, 全国已有3个省21个县引种并取得了成功, 也取得了可观的经济效益^[3]。然而对于茶叶的品种鉴定和质量品质的审评都停留于人工的感官主评定上, 缺乏客观的科学依据, 采用指纹图谱技术对茶叶品种和品质方面的研究则未见报道。为此我们在对茶叶长期研究的基础上, 选择了广东自产的特色茶—岭头单枞茶品种, 采用高效液相色谱方法研

收稿日期: 2004-05-24

* 通讯作者

基金项目: 国家重点基础研究“973计划”项目(G1998051201); 广东省科技计划项目(2003C20405);

农业部茶叶化学工程重点开放实验室开放课题(200401)

作者简介: 罗一帆(1962-), 男, 副教授, 博士生, 主要从事天然产物与药物化学方面的工作。

究其指纹图谱,利用指纹图谱技术^[4]对岭头单枞茶品种进行鉴别,为指纹图谱技术在茶叶品种和品质方面的研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

10AVP 日本岛津高效液相色谱仪;SPD 6AV 可调波长紫外检测器(日本岛津公司);CLASS-VP 色谱工作站。流动相为色谱纯甲醇,乙酸乙酯、二甲基甲酰胺、三重蒸馏水。

样品溶液:3.00g 干茶粉末(鲜叶烘干后,粉碎,过40 目筛后的粉末),于500ml 锥形瓶中,加沸蒸馏水450ml,立即移入沸水浴中。浸提45min(每隔10min 摇动一次)。浸提完后趁热抽滤。滤液移入500ml 容量瓶中,残渣用少量蒸馏水洗涤2~3 次,并将滤液并于上述容量瓶中,冷却后用蒸馏水定容,摇匀,供测定用。样品的采收时间均为2003 年9 月,产地来源于广东省内四个地区,每个地区选择了三个不同的茶场,具体产地分别为:1 号~3 号为潮安;4 号~6 号为梅州;7 号~8 号为饶平;9 号~12 号为英德。

1.2 色谱条件

色谱柱 Nova-Pak C18(3.9mm × 150mm, 5 μm);

检测波长 278nm;流动相 A 泵,三重蒸馏水;B 泵,二甲基甲酰胺:甲醇:冰醋酸=20:1:0.5(体积比);梯度洗脱;流速 1.0ml/min;柱温 38℃;进样量 10 μl。

2 结果与讨论

2.1 色谱指纹图谱的建立

岭头单枞茶样品在上述实验条件下,其色谱峰较密集。在色谱图上选择一个特定色谱峰,该峰为所有样品所共有,且位于色谱图较中心位置和具有较高的强度,将其指定为参考峰。在此基础上求出所有色谱峰的相对保留值。

相对保留值计算公式为: $\alpha = t_{ri}/t_{rs}$ 。其中 t_{ri} 为待

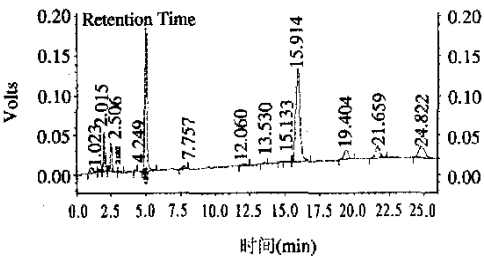


图1 8号样品的高效液相色谱指纹图谱
Fig.1 High performance liquid chromatographic fingerprint of sample No.8;]]

表1 12个样品色谱指纹图谱分析
Table 1 The analysis of chromatographic fingerprint of 12 samples

α	Sr(%)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0.069	1.40	1.69	2.15	1.56	1.41	1.24	1.44	2.07	1.95	1.93	1.78	1.52
0.106								0.32	0.31			0.27
0.126	4.90	4.59	5.94	5.12	4.15	4.43	4.59	5.38	5.10	4.90	4.81	5.11
0.158	2.65	2.68	2.45	3.25	2.81	3.94	2.91	4.55	3.89	2.21	2.59	2.78
0.195		0.20	0.27					0.22	0.22	0.21	0.22	0.20
0.275	0.53	0.45	0.59	0.54	0.49	0.28	0.49	0.27	0.62	0.57	0.53	0.56
0.317	25.81	26.28	27.15	29.18	26.11	28.07	27.74	29.50	28.54	28.25	26.64	28.36
0.492	0.99	0.84	1.25	0.93	0.78	0.77	0.89	0.74	0.83	0.93	1.08	1.11
0.587					0.33							
0.761						0.83		0.72	0.58			
0.847	0.92	0.53	0.70	0.52	0.58	0.43	0.52	0.43	0.49	0.58	0.66	1.03
0.944			0.31						0.31	0.31	0.25	0.23
1.000	41.19	34.95	38.26	38.77	30.98	31.27	36.93	38.58	37.34	40.02	42.40	36.23
1.205	4.23	3.95	5.49	4.15	3.60	3.44	3.99	4.10	4.14	4.35	4.47	4.90
1.343	5.01	3.49	5.26	4.95	3.37	3.11	3.93	5.13	5.13	5.33	5.09	5.13
1.435	8.13											
1.492				7.84	7.11							7.65
1.534		7.16	7.01								8.25	
1.568						6.84	7.44	7.68	7.62	7.62		
M ^a	11	12	13	11	12	12	11	15	15	13	13	13
N ^b	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Y	76.9	81.5	85.7	76.9	74.1	88.9	84.6	100.0	100.0	92.9	85.7	85.7

a: 总峰数。a: Quantity of total peaks.
b: 共有峰数。b: Quantity of common peaks.

测峰的绝对保留时间, t_{rs} 为参考峰的绝对保留时间。

相对面积计算公式为: $S_r = (\text{待测峰 } i \text{ 的相对面积} / \text{标准样品的总面积}) \times 100\%$ 。

其中, 岭头单枞茶 8 号样品的液相色谱指纹图谱如图 1 所示。

基于 8 号样品色谱峰总面积较大, 峰数较多且具有代表性, 将其指定为标准(其所有峰的总面积为 6500041), 以求出待测峰 i 的相对面积。将样品中各组分的相对保留值 α 按大小排列, 并在每个 α 值项下标出该组分的相对面积 S_r , 再将不同样品中具有相同 α 值的 S_r 做比较分析如表 1 所示。表中无对应的相对面积 S_r 时表示该样品不具有该 α 值的色谱峰。

例如: 8 号样品选择绝对保留值为 15.914min 的色谱峰为参考峰 t_{rs} , 它的相对保留值 α 为 1.000, 其对应的相对面积 S_r 为 $(2507840/6500041) \times 100\% = 38.58\%$ 。该样品色谱指纹图谱中第 7 号峰的绝对保留值 t_{ri} 为 5.029min, 则其 α 值为 $5.029/15.914 = 0.316$, 而该峰的相对面积 S_r 为 $(1917743/6500041) \times 100\% = 29.50\%$ 。将各样品相近的相对保留值求平均值作为色谱指纹图谱的 α 值, 其最大偏差均都在 5% 以内。将样品中各组分的相对保留值 α 按大小排列, 并在每个 α 值项下标出该组分的相对面积 S_r , 组成岭头单枞茶样品的数字化色谱指纹图谱。

2.2 岭头单枞茶样品的色谱指纹图谱特征

各样品的色谱指纹图谱很相似。含量较高的峰集中在三个区间, 其 α 值分别为 0.06~0.16, 0.317 和 0.99~1.57 等三个区域, 其中 α 值为 0.317 处有 1 个较强峰, 1.000 处有一独立的最强峰为主要特征。1.435 以后各样品都有一个稍强的峰出现, 但并不一致。

色谱指纹图谱八强峰是指某样品的色谱峰中相对面积 S_r 较大的前 8 个色谱峰。表 2 是岭头单枞茶 12 个样品的色谱指纹图谱八强峰。

色谱指纹图谱重叠率计算公式为: 重叠率 $Y = [2 \times (\text{待测样品与标准样品共有峰}) / (\text{待测样品峰数} + \text{标准样品$

峰数)] $\times 100\%$ 。

8 号样品的指纹图谱亦被指定作为标准, 以此求出其余 11 个样品的色谱指纹图谱重叠率。12 个样品的色谱指纹图谱重叠率从 1 号到 12 号分别为: 76.9、81.5、85.7、76.9、74.1、88.9、84.6、100.0(8 号样品为标准)、100.0、92.9、85.7 和 85.7。

2.3 色谱指纹图谱共有峰

在可供比较研究的样品中, 具有相同保留值 α 的峰, 即为共有峰。有 10 个色谱峰为 12 个岭头单枞茶样品所共有(即为 100% 共有); 另有 1 个色谱峰为 7 个样品所共有(58.3%), 2 个色谱峰为 5 个样品所共有(41.7%), 其他色谱峰则较零散。因此为 12 个岭头单枞茶样品所共有的 10 个色谱峰可作为判别岭头单枞茶的群体特征峰, 其 α 值分别为 0.069、0.126、0.158、0.275、0.317、0.492、0.847、1.000、1.205 和 1.343, 这些色谱指纹峰为岭头单枞茶样品的 100% 共有峰, 这 10 个色谱峰为岭头单枞茶的基本组成成分, 可作为鉴别岭头单枞茶样品的必要条件之一。

2.4 色谱指纹图谱八强峰和重叠率

从表 2 岭头单枞茶 12 个样品的色谱指纹图谱八强峰可以看出, α 值为 0.069、0.126、0.158、0.317、1.000、1.205 和 1.343 等 7 个峰都进入了八强峰, 且均为 100% 共有峰, 表明这 7 种组分均为岭头单枞茶的最主要组分, 其余 α 值为 1.435、1.492、1.534、1.568 的峰出现的机率均不高。从各样品八强峰的相对总面积分析, 所有样品的八强峰相对总面积大小不一。其中, 1、3、4、8、9、10、11、12 号样品的八强峰相对总面积都在 90% 以上; 2、6、7 样品则在 80%~90% 之间; 最低的 5 号样品也有 79.54%。从 12 个样品的色谱指纹图谱八强峰可以看出, 岭头单枞茶品质与产地可能有一定的相关性。这为以后茶叶产品的加工与处理的研究提供一定的参考。

从岭头单枞茶 11 个样品的色谱指纹图谱重叠率可以

表 2 12 个样品色谱指纹图谱八强峰
Table 2 The eight strong peaks of chromatographic fingerprint of 12 samples

样品编号 Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069
2	0.126	0.126	0.126	0.126	0.126	0.126	0.126	0.126	0.126	0.126	0.126	0.126
3	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158
4	0.317	0.317	0.317	0.317	0.317	0.317	0.317	0.317	0.317	0.317	0.317	0.317
5	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	1.205	1.205	1.205	1.205	1.205	1.205	1.205	1.205	1.205	1.205	1.205	1.205
7	1.343	1.343	1.343	1.343	1.343	1.343	1.343	1.343	1.343	1.343	1.343	1.343
8	1.435	1.534	1.534	1.492	1.492	1.568	1.568	1.568	1.568	1.568	1.534	1.492
ΣS^c	93.32	84.79	93.71	94.82	79.54	82.34	88.97	96.99	93.71	94.61	96.03	91.68

c: 八强峰相对总面积(%). c: Relative total area(%).

鲜奶中甲醛快速检测新方法研究

于 琴, 董文宾, 王顺民, 赵旭博

(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西 咸阳 712081)

摘 要: 本文通过试验建立了一种鲜奶中甲醛测定的新方法, 即给掺假样品中加入 AgNO_3 和 NaOH 试液, 置沸水浴加热即会出现淡咖啡~深咖啡色均判为阳性反应。在最佳操作条件下, 对甲醛的最低检出限可达到 $7.6 \mu\text{g/ml}$ 乳。方法灵敏, 试剂简单, 掺假现象容易判断, 便于推广应用。

关键词: 鲜奶; 甲醛; 检测

Study on a New Method for Rapid Inspection of Formaldehyde in Fresh Milk

YU Qin, DONG Wen-bin, WANG Shun-min, ZHAO Xu-bo

(College of Life Science and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xianyang 712081, China)

Abstract: In this paper a new method for rapid inspection of formaldehyde in fresh milk was established through the test. AgNO_3 and NaOH solution were added to the adulterated sample sequentially and the sample was bath boiled, when the coffee-color of different shades appeared to show reaction the positive. Under the optimum operation conditions, the lowest quantity limit of formaldehyde detected was $7.6 \mu\text{g/ml}$ milk. The test phenomenon showed that the method was sensitive, simple and easy to apply.

Key words: fresh milk; formaldehyde; inspection

中图分类号: TS252.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)04-0209-03

牛乳中富含蛋白质、脂肪、乳糖、矿物质、维生素等营养成分, 是一类营养丰富的大众化食品。由

于人民生活水平的提高, 乳与乳制品的需求量逐年上升, 有些地方甚至出现了供不应求的局面, 但有一些

收稿日期: 2004-05-08

基金项目: 国家“十五”科技专项资助(陕西)奶业项目(2002BA518A17)

作者简介: 于琴(1978-), 女, 硕士研究生, 从事生物工程及质量检测方面的研究。

看出, 除 1、4、5 号样品的重叠率小于 80% 以外, 其它 9 个样品的重叠率均在 80% 以上。究其归属, 1、2、3、6、7、8、9、10、11、12 号样品应为岭头单枞茶正品; 1、4、5 号样品重叠率偏低, 可能跟其品种的引种中品种的变异有关。

茶叶提取物在给定实验条件下所得到的色谱指纹图谱反映了该茶叶的化学组成及其含量分布状况, 其特征峰可作为鉴别茶叶品种的依据。研究结果表明: 在茶叶成分复杂, 品种鉴定的依据成分不完全明确的前提下, 利用色谱指纹图谱来鉴别岭头单枞茶的品种是切实可行的, 并为不同品种及不同产地样品之间的鉴别提供了科学依据, 同时也为指纹图谱技术在茶叶品种开发和品质改善等方面的研究提供基础。在此基础上我们将利用指纹图谱技术对同一品种的茶葉采用不同的加工方法所得

到的茶叶的品质进行研究, 试图寻找茶叶不同品质的指纹图谱, 以改变人工感官评审的方法, 使茶叶审评客观化、科学化和标准化。

参考文献:

- [1] 伍锡岳, 刘福益, 曾文伟, 等. 田峰山 AA 级绿色食品单丛茶生产开发的做法[J]. 广东茶业, 2003, (1): 7-11.
- [2] 戴素贤, 陈国本, 崔堂兵, 等. 做青强度对岭头单枞茶香气成分影响的研究[J]. 分析测试学报, 1998, 17(5): 32-35.
- [3] 唐行, 丘森林. 广东岭头白叶单丛茶栽培技术[J]. 茶业通报, 1999, 21(3): 17-18.
- [4] 洪筱坤, 王智华. 中药数字化色谱指纹谱 [M]. 上海科学技术出版社, 2003.