

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2022.01.030

紫娟茶中甲基化儿茶素提取工艺优化

Study on extraction process of methylated catechin from Zijuan tea by response surface methodology

李宇倩¹ 高创创¹ 李明超¹ 李晓蕾² 郝倩¹LI Yu-qian¹ GAO Chuang-chuang¹ LI Ming-chao¹ LI Xiao-lei² HAO Qian¹

(1. 昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500;

2. 昆明理工大学分析测试研究中心, 云南 昆明 650500)

(1. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650500, China; 2. Research Center for Analysis and Measurement, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650500, China)

摘要:目的:优化紫娟茶中甲基化儿茶素的提取工艺。方法:以酸性乙醇为溶剂,考察提取时间、提取温度和液料比对紫娟茶中甲基化儿茶素提取率的影响。结果:紫娟茶中甲基化儿茶素的最佳提取条件为提取时间 100 min,提取温度 75 ℃,料液比($m_{\text{紫娟茶}} : V_{\text{溶剂}}$) 1 : 74 (g/mL),此条件下甲基化儿茶素质量浓度为 26.7 mg/g,与验证值的相对误差为 1.48%。结论:运用 HPLC 分析和响应面分析法优化紫娟茶中甲基化儿茶素的提取工艺简单、可行。

关键词:紫娟茶; 响应面; 高效液相色谱法; 甲基化儿茶素; 提取率

Abstract: Objective: optimizing the extraction process of methylated catechin from Zijuan tea. Methods: Using acid ethanol as extraction solvent, based on three single factor experiments, the extraction time, extraction temperature and liquid-solid ratio were used to investigate the interaction of the above three factors on the extraction rate of methylated catechin from Zijuan tea. Results: The optimum extraction conditions were as follows: extraction time 100 min, extraction temperature 75 ℃, solid-liquid ratio ($m_{\text{Zijuan tea}} : V_{\text{Solvent}}$) 1 : 74 (g/mL); under these conditions, the mass concentration of methylated catechin in the extract could reach 26.7 mg/g, and the relative error with the verification value was 1.48%. Conclusion: HPLC and response

surface methods were used to optimize the extraction process of methylated catechins in Zijuan tea. The process is simple and the verification results are reasonable.

Keywords: Zijuan tea; response surface methodology; high performance liquid chromatography; methylated catechin; extraction rate

紫娟茶是一种芽、叶、茎均为紫色的茶树品种,为普洱茶的一个重要变种^[1]。紫娟茶具有明显的降压及抗敏作用^[2],且含有丰富的化学成分,如儿茶素类^[3-4]、花青素类^[5]、色素^[6]及微量元素^[7]等。前期研究^[8]表明,紫娟茶中含有甲基化儿茶素类成分。甲基化儿茶素是最早被日本科学家^[9]从绿茶品种 *Benihomare* 中分离得到,是具有显著抗过敏、消炎、降血压等效果的新型化合物^[10]。Sano 等^[11-12]分别从台湾冻顶乌龙、绿茶 *Benihomare* 中先后分离得到 EGCG3"Me 和 EGCG4"Me,且 EGCG3"Me 在动物血液中的稳定性显著高于未甲基化的 EGCG,其口服吸收率约为 EGCG 的 9 倍^[13],这可能是由于甲基化后的儿茶素脂溶性增加,总体脂溶量和吸收率均高于正常儿茶素,其生物利用度也有很大程度提高^[14]。此外,茶树秋冬季鲜叶中的甲基化儿茶素含量高于春夏季,且随叶片成熟度的提高而升高^[15]。吕海鹏等^[16]研究表明紫娟茶第三叶的 EGCG3"Me 成分含量最高并达到 1.24%。目前关于儿茶素提取工艺优化的研究多以提取时间、提取温度、溶液含水率等为影响因素,通过响应面法对儿茶素提取工艺进行优化^[17-18]。但有关甲基化儿茶素的提取工艺研究甚少^[13]。

试验前期,从云南产紫娟茶中分离得到的两个甲基化儿茶素 EGCG3"Me 和 ECG3"Me 结构如图 1 所示。试验拟采用 HPLC 和响应面分析法优化紫娟茶中甲基化儿

基金项目:国家自然科学基金(编号:31660099);云南省科技计划项目(编号:2017FD100);云南省教育厅科学研究基金(编号:2019Y0039)

作者简介:李宇倩,女,昆明理工大学在读硕士研究生。

通信作者:郝倩(1986—),女,昆明理工大学副教授,博士。

E-mail: haoq@kust.edu.cn

李晓蕾(1978—),女,昆明理工大学副教授,博士。

E-mail: lixiaolei0726@hotmail.com

收稿日期:2021-06-21

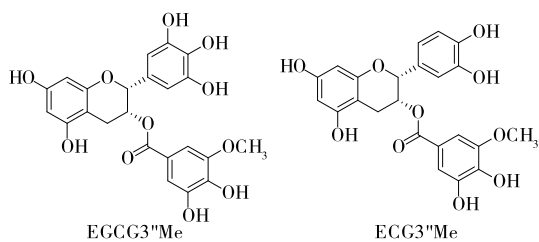


图1 EGCG3''Me和 ECG3''Me结构

Figure 1 Structure of compounds EGCG3''Me and ECG3''Me

茶素成分的提取工艺,采用 Design-Expert 8.0.6 软件对数据进行分析并建立分析模型,明确提取时间、提取温度和料液比 3 个因素对紫娟茶中甲基化儿茶素(EGCG3''Me 和 ECG3''Me)提取质量分数的交互影响,以期为该茶树品种开发新功能性饮料及保健食品的发展提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料、试剂与仪器

紫娟茶:2010 年,产地云南邦东;

EGCG3''Me、ECG3''Me 标准品:纯度为 95%,昆明理工大学云南省高校靶点药物筛选与利用重点实验室自制;

无水甲醇、无水乙醇:分析纯,天津致远化学试剂有限公司;

三氟乙酸:分析纯,重庆川东化学试剂厂;

乙腈:色谱纯,美国 BCR 试剂公司;

电子天平:CP64C 型,奥豪斯仪器(上海)有限公司;

高效液相色谱:U-3000 型,戴安(中国)有限公司;

电热恒温水浴锅:SB-1200 型,上海爱朗仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 标准样品制备及标准曲线绘制 参照孙业良等^[13-14,19-20]的方法。HPLC 条件:Welchrom C₁₈ 色谱分析柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);乙腈(A)—50 mmol/L 磷酸(B)为流动相,4%~100% 梯度洗脱,洗脱时间 60 min,流速 1.0 mL/min,柱温 30 ℃,波长 280 nm。

1.2.2 精密度试验 取混合标准品液 6 份,按 1.2.1 的 HPLC 条件分别进样 6 次,计算 EGCG3''Me 和 ECG3''Me 峰面积的相对标准偏差(RSD)。

1.2.3 重复性试验 选取供试品溶液 6 份,按 1.2.1 的 HPLC 条件连续进样 6 次,计算 EGCG3''Me 和 ECG3''Me 峰面积。

1.2.4 稳定性试验 选取供试品溶液 1 份,配制后避光冷藏 0,2,4,6,8,12 h,按 1.2.1 的 HPLC 条件进样,计算 EGCG3''Me 和 ECG3''Me 的 RSD 值。

1.2.5 回收率试验 选取已确定浓度的含有 EGCG3''Me 的样品 6 份,各加入 0.1 mg EGCG3''Me 标品,按样品质量分数测定方法进行处理和测定;取已确定浓度的含有

EGCG3''Me 的样品 6 份,加入 0.1 mg ECG3''Me 标准品,按样品质量分数测定方法处理和测定,计算样品的平均加样回收率。

1.2.6 单因素试验

(1) 提取溶剂:准确称取 1.00 g 紫娟茶样品,浸泡于 50 mL 溶液中,分别以酸性甲醇(1% TFA)、酸性乙醇(1% TFA)、水、酸性水(1% TFA)、酸性甲醇水(1% TFA)、酸性乙醇水(1% TFA)为提取溶剂,60 ℃ 提取 60 min,重复提取 3 次,取上清经微孔滤膜后进行 HPLC 分析,考察提取溶剂对浸提液中甲基化儿茶素(EGCG3''Me 和 ECG3''Me)质量分数的影响。

(2) 提取时间:精确称取 1.00 g 紫娟茶样品,浸泡于 50 mL 溶液中,以酸性乙醇(1% TFA)为溶剂,60 ℃ 下分别提取 20,40,60,80,100,120 min,重复提取 3 次,取上清经微孔滤膜后进行 HPLC 分析,考察提取时间对浸提液中甲基化儿茶素(EGCG3''Me 和 ECG3''Me)质量分数的影响。

(3) 提取温度:精确称取 1.00 g 紫娟茶样品,浸泡于 50 mL 溶液中,以酸性乙醇(1% TFA)为溶剂,提取温度分别为 30,40,50,60,70,80 ℃,提取时间为 100 min,重复提取 3 次,取上清液经微孔滤膜过滤后进行 HPLC 分析,考察提取温度对浸提液中甲基化儿茶素(EGCG3''Me 和 ECG3''Me)质量分数的影响。

(4) 料液比:精确称取 1.00 g 紫娟茶样品,以酸性乙醇(1% TFA)为溶剂,料液比分别为($m_{紫娟茶} : V_{溶剂}$)1:10,1:20,1:30,1:40,1:50,1:60 (g/mL),70 ℃ 提取 100 min,重复提取 3 次,取上清液经微孔滤膜过滤后进行 HPLC 分析,考察料液比对浸提液中甲基化儿茶素(EGCG3''Me 和 ECG3''Me)质量分数的影响。

1.2.7 响应面试验优化 参照高晶晶等^[21]的方法,根据单因素试验结果确定响应面试验的因素水平取值,采用 Box-Behnken 设计,以浸提液中甲基化儿茶素(EGCG3''Me 和 ECG3''Me)质量分数为响应值,优化紫娟茶中甲基化儿茶素提取工艺条件。

2 结果与分析

2.1 紫娟茶中甲基化儿茶素含量 HPLC 分析方法的建立

2.1.1 标准曲线制作 以不同浓度梯度 ECG3''Me 和 EGCG3''Me 两个标品的 HPLC 峰面积作纵坐标,两个标品浓度(mg/mL)为横坐标,计算标准曲线线性回归方程分别为 $Y=3\ 204.94X-36.94$, $Y=2\ 911.45X-25.65$,且两种标品在 0~3 mg/mL 时,质量浓度与峰面积表现出显著线性关系,其 R^2 分别为 0.999 60 和 0.999 86。

2.1.2 精密度试验 经测定,EGCG3''Me 和 ECG3''Me 峰面积的相对标准偏差(RSD)分别为 1.43%,1.59%,均在 2%之内,说明试验方法的精密度良好。

2.1.3 重复性试验 经测定,EGCG3''Me 和 ECG3''Me

峰面积的 RSD 分别为 0.49%, 1.48%, 均在 2% 之内, 说明此方法的重复性良好。

2.1.4 稳定性试验 经测定, EGCG3"Me 和 ECG3"Me 峰面积的 RSD 值分别为 0.48%, 1.58%, 说明供试品的溶液在 12 h 内稳定。

2.1.5 回收率试验 通过回收率试验的考察, 样品的平均加样回收率分别为 94.5%, 92.5%, 说明该方法有较好的回收率。

2.2 单因素试验

2.2.1 提取溶剂 由图 2 可知, 以酸性乙醇为提取溶剂时, 浸提液中 EGCG3"Me 质量分数达最大值; 以酸性甲醇为提取溶剂时, 浸提液中 ECG3"Me 质量分数达最大值。从甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)的提取质量分数来看, 酸性乙醇的提取质量分数可达 14.755 mg/g, 70% 酸性甲醇的次之, 水溶剂提取的最小。因此试验选取酸性乙醇作为提取溶剂。酸性乙醇中甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)提取质量分数最高, 可能是因为甲基化儿茶素比非甲基化儿茶素的脂溶性更强。

2.2.2 提取时间 由图 3 可知, 随着提取时间的延长, EGCG3"Me、ECG3"Me 以及甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数均先变大后减小, 且均在 100 min 时达最大值, 此时甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数为 5.663 mg/g。因此选取 100 min 为最佳

提取时间。这可能是甲基化儿茶素起初会随着时间的延长, 浸出物增加, 呈上升趋势, 经过一段时间的累积, 甲基化儿茶素的浸出量接近饱和, 且甲基化儿茶素会随着时间的延长存在部分降解的现象, 从而呈下降趋势。

2.2.3 提取温度 由图 4 可知, 随着提取温度的升高, 物质扩散系数增大, 浸出量增大, EGCG3"Me、ECG3"Me 以及甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数均增加, 当提取温度 > 60 °C 时, EGCG3"Me、ECG3"Me 以及甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数上升趋势均趋于平缓当提取温度为 60 °C 时, 甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数为 15.467 mg/g; 当提取温度为 70 °C 时, 甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数为 17.177 mg/g, 提取质量分数明显提高; 当提取温度为 80 °C 时, 甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数为 19.605 mg/g, 虽然有增长的趋势但较平缓, 且乙醇的沸点为 78.5 °C, 随着提取温度的升高, 乙醇会因沸腾而造成挥发, 影响溶剂对紫娟茶的浸提作用。因此, 确定最佳的提取温度为 70 °C。

2.2.4 料液比 由图 5 可知, 随着料液比的增加, EGCG3"Me、ECG3"Me 以及甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数上升, 且当料液比 ($m_{紫娟茶} : V_{溶剂}$) > 1 : 70 (g/mL) 后上升趋势较平稳。但就甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数来看, 当料液比 ($m_{紫娟茶} : V_{溶剂}$) 为 1 : 10 ~ 1 : 70 (g/mL), 甲基化儿茶素

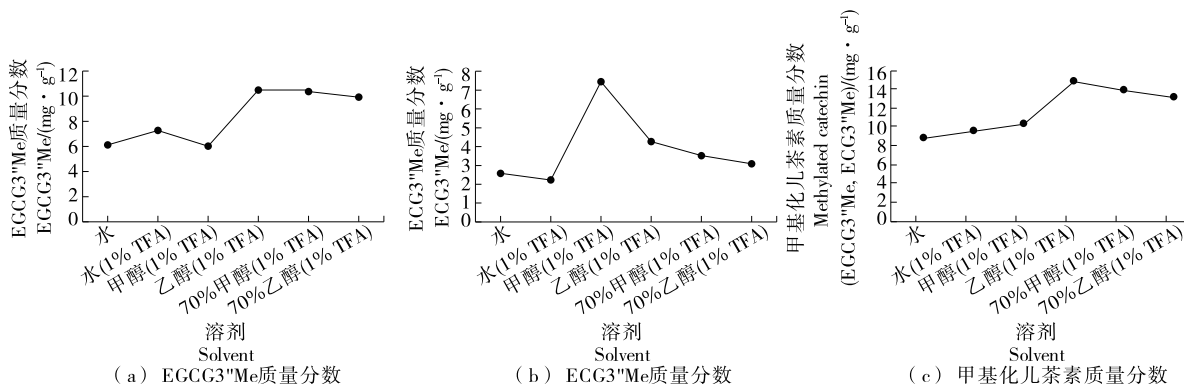


图 2 提取溶剂对甲基化儿茶素质量分数的影响

Figure 2 Effects of extraction solvent on the mass fraction of methylated catechins

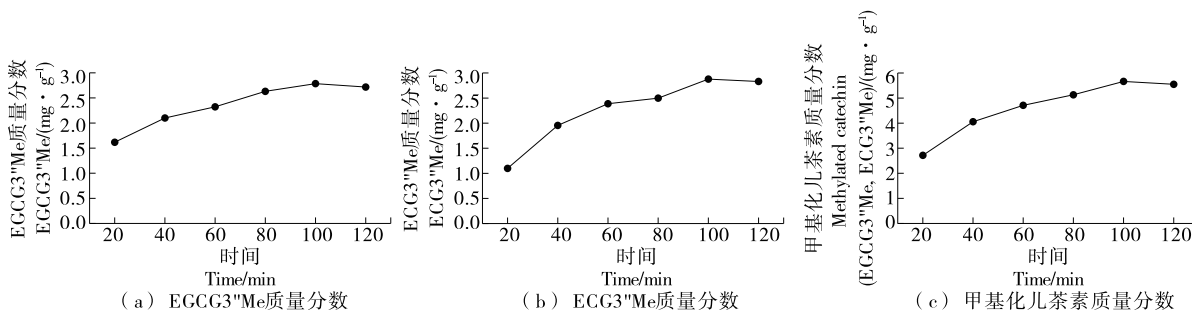


图 3 提取时间对甲基化儿茶素质量分数的影响

Figure 3 Effects of extraction time on the mass fraction of methylated catechins

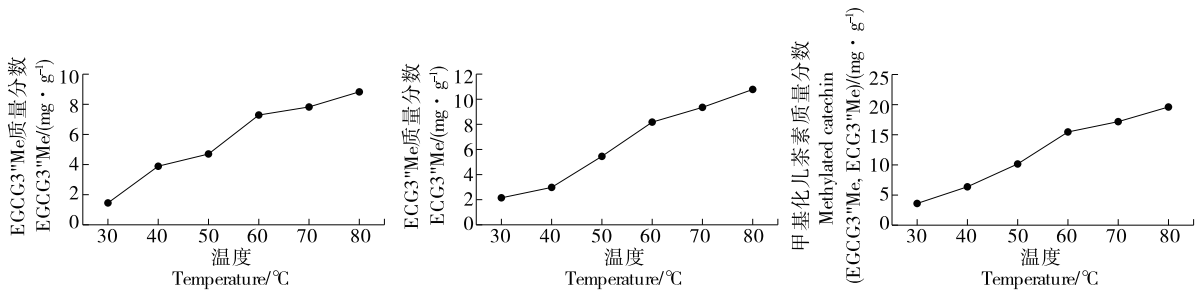


图4 提取温度对甲基化儿茶素质量分数的影响

Figure 4 Effects of extraction temperature on the mass fraction of methylated catechins

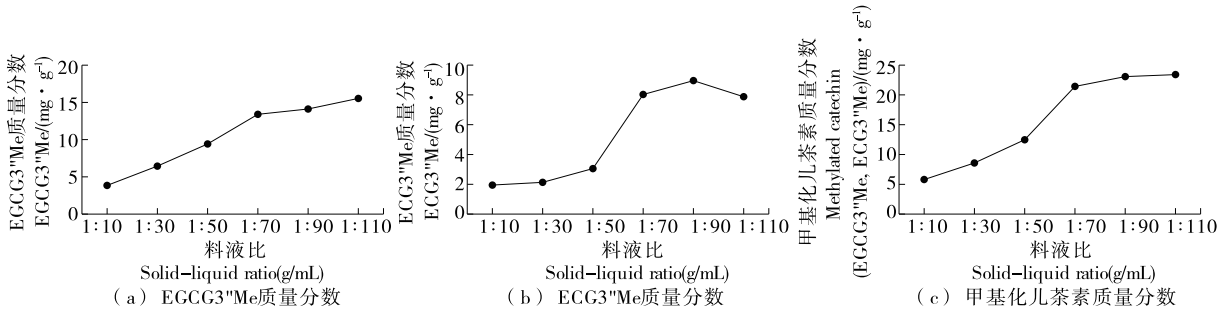


图5 料液比对甲基化儿茶素质量分数的影响

Figure 5 The effects of material-liquid ratio on the mass fraction of methylated catechins

(EGCG3''Me 和 ECG3''Me)质量分数逐渐升高,当料液比 ($m_{紫娟茶} : V_{溶剂}$) 为 1 : 70~1 : 90 (g/mL)时,甲基化儿茶素质量分数虽有增高但趋于平缓,考虑其经济效益,选择 1 : 70 (g/mL)作为最优料液比。

2.3 响应面分析法优化工艺结果

2.3.1 响应面模型构建 基于单因素试验结果,选取提取时间、提取温度和料液比为试验因素,以浸提液中甲基化儿茶素(EGCG3''Me 和 ECG3''Me)质量分数为响应值,采用 Design-Expert 8.0.6 软件辅助设计三因素三水平的响应面分析试验。试验因素水平见表 1,试验设计及结果见表 2。

对表 2 试验数据进行多元回归分析,经拟合得到甲基化儿茶素(EGCG3''Me 和 ECG3''Me)质量分数的二次多项回归方程为:

$$Y = 26.75 + 0.44X_1 + 1.52X_2 + 0.97X_3 - 1.10X_1X_2 - 0.60X_1X_3 + 0.088X_2X_3 - 1.54X_1^2 - 2.16X_2^2 - 1.31X_3^2 \quad (1)$$

2.3.2 回归函数模型方差分析 由表 3 可知,模型 $P < 0.0001$,表明该回归模型极显著;失拟度 $P = 0.2016 >$

0.05,不显著。决定系数 R^2 为 0.9788,调整系数 R_{adj}^2 为 0.9516,具有一致性,表明试验误差较小,可以利用此模型来预测紫娟茶中甲基化儿茶素提取工艺。模型中一次项 X_1 、 X_3 ,交互项 X_1X_2 、 X_1X_3 及二次项 X_1^2 、 X_3^2 影响显著 ($P < 0.05$),一次项 X_2 和二次项 X_2^2 影响极显著 ($P < 0.01$),其余项影响均不显著。由 F 值可知,各因素对紫

表 2 响应面试验设计方案及结果

Table 2 Design and results of the response surface experiment

试验号	X_1	X_2	X_3	甲基化儿茶素质量分数/(mg·g ⁻¹)
1	0	0	0	26.8751
2	0	0	0	26.9814
3	0	-1	1	22.3303
4	0	0	0	26.9579
5	0	-1	-1	20.4910
6	-1	0	1	25.1001
7	1	-1	0	23.5143
8	0	1	-1	24.0525
9	1	0	1	24.5637
10	0	0	0	26.0833
11	1	0	-1	23.9200
12	-1	0	-1	22.0465
13	1	1	0	23.6796
14	0	0	0	26.8554
15	-1	1	0	24.7870
16	0	1	1	26.2462
17	-1	-1	0	20.2314

表 1 响应面因素水平

Table 1 Code levels of the response surface experiment design

水平	X_1 提取时间/min	X_2 提取温度/°C	X_3 料液比(g/mL)
-1	80	60	1 : 50
0	100	70	1 : 70
1	120	80	1 : 90

娟茶中甲基化儿茶素质量分数的影响顺序为提取温度 > 料液比 > 提取时间。

2.3.3 响应面曲面分析 由图 5 可知,提取时间与料液比交互作用的曲面相对较陡,因此提取温度对用酸性乙醇提取甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数的影响显著性最强;料液比对甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数的影响次之。在图 6(b)和图 6(d)中,随提取时间增加儿茶素质量分数呈现先增大后减小的趋势,提取时间在 110 min 左右出现最大值;在图 6(d)和图 6(f)中,随着料液比增大儿茶素质量分数先快速增加后趋于平缓;在图 6(b)和图 6(f)中,随着提取温度升高儿茶素质量分数呈现先增大后减小的趋势,提取温度在 75 °C 左右出现最大值。根据响应面优化模型可预测紫娟茶中甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)提取的最优条件为以酸性乙醇为提取溶剂,提取时间 100 min、提取温度 75 °C、料液比($m_{紫娟茶} : V_{溶剂}$)1 : 74 (g/mL),此时浸提液中甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数理论值为 27.1 mg/g。

表 3 回归方程的方差分析[†]

Table 3 ANOVA table of variables

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	74.780	9	8.310	35.92	<0.000 1	**
X ₁	1.540	1	1.540	6.67	0.036 4	*
X ₂	18.600	1	18.600	80.39	<0.000 1	**
X ₃	7.470	1	7.470	32.29	0.000 7	*
X ₁ X ₂	4.820	1	4.820	20.83	0.002 6	*
X ₁ X ₃	1.450	1	1.450	6.28	0.040 7	*
X ₂ X ₃	0.031	1	0.031	0.14	0.723 8	
X ₁ ²	9.920	1	9.920	42.89	0.000 3	*
X ₂ ²	19.690	1	19.690	85.11	<0.000 1	**
X ₃ ²	7.200	1	7.200	31.14	0.000 8	*
残差	1.620	7	0.230			
失拟	1.050	3	0.350	2.47	0.201 6	
纯误差	0.570	4	0.140			
总变异	76.400	16				

[†] ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$); * 表示差异显著 ($P < 0.05$); $R^2 = 0.978 8, R_{adj}^2 = 0.951 6$ 。

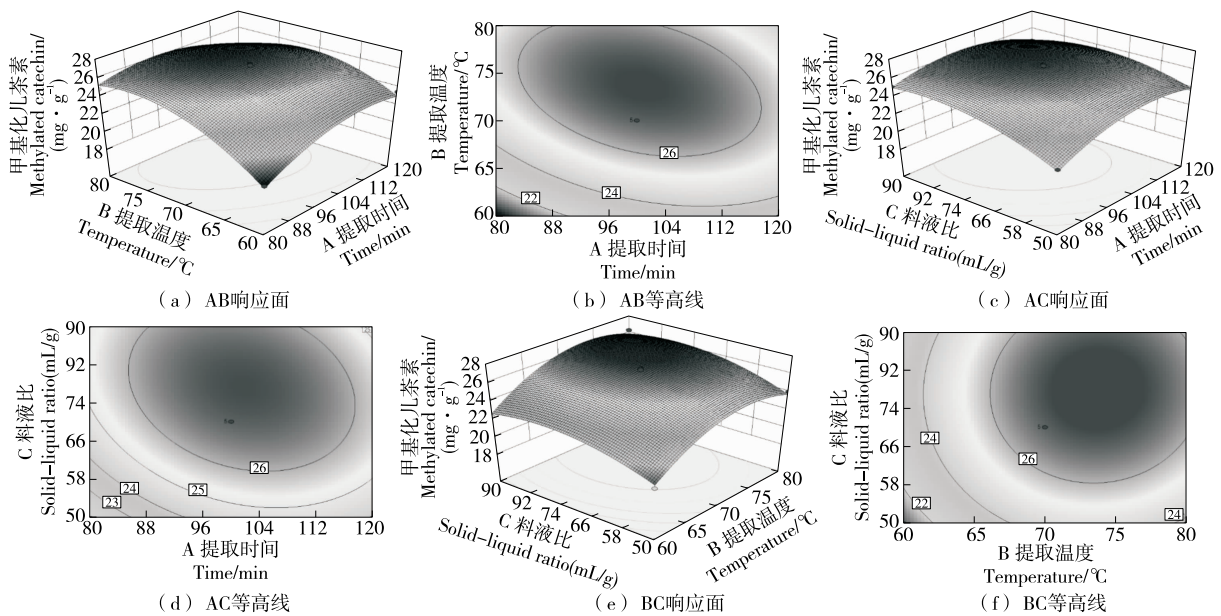


图 6 各因素交互作用的等高线和响应面图

Figure 6 Response surface of the pairwise interactive effects of three extraction conditions on extraction content of methylated catechin from zijuan tea

2.3.4 验证实验 根据响应面优化所得最优提取条件进行 3 次平行实验,测定浸提液中 EGCG3"Me 质量分数平均值为 13.4 mg/g, ECG3"Me 质量分数平均值为 13.3 mg/g,甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数平均值为 26.7 mg/g。甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)质量分数与理论预测值的相对误差为 1.48%,说明该回归模型优化的工艺组合是有效的。

3 结论

建立了紫娟茶中甲基化儿茶素含量的 HPLC 分析方

法,并对其提取工艺进行了优化。结果表明,紫娟茶中甲基化儿茶素(EGCG3"Me 和 ECG3"Me)的最优提取工艺为以酸性乙醇为提取溶剂,提取时间 100 min、提取温度 75 °C、料液比($m_{紫娟茶} : V_{溶剂}$)1 : 74 (g/mL),此时甲基化儿茶素质量分数为 26.7 mg/g,与理论预测值的相对误差为 1.48%。后续考虑对甲基化儿茶素的药理作用进行研究,分析不同位点的甲基化对儿茶素的药理作用的影响,并研究不同药理作用形成的原因。

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. New tea variety ‘Zi-juan’[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2008, 35(6): 934.
- [2] ARACWLI C, MA D L P, MA E P, et al. Chemical studies of anthocyanins: A review (Review) [J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 859-871.
- [3] JIANG Li-hua, SHEN Xiao-jia, TOSHIHIKO Shoji, et al. Characterization and activity of anthocyanins in Zijuan tea (Camellia sinensis var. kitamura)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(13): 3 306-3 310.
- [4] 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. Comparative study on amino acids and trace elements in Zijuan tea with different processing techniques [J]. Modern Food Science & Technology, 2013, 29(4): 872-875.
- [5] 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): 2 480-2 486.
CHEN Bao, JIANG Dong-hua, LUO Fa-mei, et al. Comparison of aroma components of Zijuan tea with four different processing techniques[J]. Modern Food Science & Technology, 2013, 29(10): 2 480-2 486.
- [6] GONG Jia-shun, ZHANG Qin, PENG Chun-xiu, et al. Curie-point pyrolysis-gas chromatography-mass spectroscopic analysis of the abrownins from fermented Zijuan tea[J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2012, 97: 171-180.
- [7] WANG Qiu-pin, PENG Chun-xiu, GAO Bin, 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.
- [8] 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, 35(9): 10-12.
LI Guang-tao, LIANG Ming-zhi, WANG Yun-gang, et al. Research progress on Zijuan, a peculiar tea cultivar in Yunnan[J]. China Tea, 2013, 35(9): 10-12.
- [9] SAIJO R. Isolation and chemical structures of two new catechins from fresh tea leaf[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1982, 46(7): 1 969-1 970.
- [10] SUZUKI M, YOSHINO K, MAEDA-YAMAMOTO M, et al. Inhibitory effects of tea catechins and O-methylated derivatives of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate on mouse type IV allergy [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(11): 5 649-5 653.
- [11] SANO M, SUZUKI M, MIYASI T, et al. Novel antiallergic catechin derivatives isolated from oolong tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(5): 1 906-1 910.
- [12] AMAROWICZ R, SHAHIDI F. Presence of two forms of methylated (-)-epigallocatechin-3-gallate in green tea [J]. Die Nahrung, 2003, 47(1): 21-23.
- [13] 孙业良, 吕海鹏, 林智, 等. 茶叶中 EGCG³Me 的分析方法研究[J]. 茶叶科学, 2009, 29(5): 379-384.
SUN Ye-liang, LU Hai-peng, LIN Zhi, et al. Study on analytical method of EGCG³Me in tea[J]. Journal of Tea Science, 2009, 29(5): 379-384.
- [14] 唐娜. 茶叶中甲基化 EGCG 的分析方法建立与资源化学研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2010: 12-19.
TANG Na. Establishment of analytical method of methylated EGCG in tea and research on resource chemistry[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2010: 12-19.
- [15] 谢凤, 孙威江, 邓婷婷. 茶树表没食子儿茶素-3-O-(3-O-甲基)没食子酸酯研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(7): 1 291-1 297.
XIE Feng, SUN Wei-jiang, DENG Ting-ting. Research progress of tea plant epigallocatechin-3-O-(3-O-methyl) gallate [J]. Natural Product Research and Development, 2019, 31(7): 1 291-1 297.
- [16] 吕海鹏, 杨婷, 梁名志, 等. “紫娟”茶中的 EGCG³Me 成分研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(9): 286-289, 296.
LU Hai-peng, YANG Ting, LIANG Ming-zhi, et al. Study on EGCG³Me in "Zijuan" tea [J]. Modern Food Science & Technology, 2014, 30(9): 286-289, 296.
- [17] 阮怿航, 吴亮宇, 鲁静, 等. 响应面法优化低共熔溶液提取儿茶素工艺及组分分析[J]. 食品工业, 2020, 41(3): 121-125.
RUAN Yi-hang, WU Liang-yu, LU Jing, et al. Response surface methodology to optimize the extraction process and component analysis of catechins from eutectic solution[J]. The Food Industry, 2020, 41(3): 121-125.
- [18] 朱兴一, 杨军辉, 谢捷, 等. 响应面法优化闪式提取茶叶中儿茶素类物质的工艺研究[J]. 林产化学与工业, 2011, 31(3): 105-109.
ZHU Xing-yi, YANG Jun-hui, XIE Jie, et al. Response surface methodology to optimize the technology of flash extraction of catechins from tea [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2011, 31(3): 105-109.
- [19] 张静, 任小利, 李希希, 等. HPLC 测定罗布麻茶黄酮主要组成成分及其体外抗氧化特性研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(9): 89-93.
ZHANG Jing, REN Xiao-li, LI Xi-xi, et al. HPLC analysis of flavonoids in Apocynumvenetum tea and its antioxidation in vitro[J]. Food & Machinery, 2019, 35(9): 89-93.
- [20] 李明超. 紫娟茶化学成分及其活性研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2020: 21-33.
LI Ming-chao. Study on the chemical constituents and activities of Zijuan tea [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2020: 21-33.
- [21] 高晶晶, 慕苗, 闫君芝, 等. 陕北小粒黑豆皮原花青素提取工艺及抗氧化性研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(6): 159-164.
GAO Jing-jing, MU Tian, YAN Jun-zhi, et al. Study on the extraction processing and antioxidant activity of procyanidins from small black bean coats in Northern Shaanxi[J]. Food & Machinery, 2019, 35(6): 159-164.