

Определение галловой кислоты, катехина, эпикатехина и кофеина в экстрактах черного чая

Д.О. Мареева, Т.Г. Цюпко*, В.В. Милевская, А.З. Темердашев

*Кубанский государственный университет,
Российская Федерация, 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, 149*

*Адрес для переписки: Цюпко Татьяна Григорьевна, E-mail: tsytko@inbox.ru

Поступила в редакцию 27 ноября 2014 г., после исправлений – 8 ноября 2015 г.

Катехины, входящие в состав чая, проявляют биологическую активность, обуславливая его антиоксидантные, антиканцерогенные и антимуtagenные свойства. Содержания катехинов и других индивидуальных соединений в чайном экстракте находят хроматографическим методом (**ВЭЖХ**) или методом капиллярного электрофореза (**КЭ**). Учитывая состав чая, экстрагируемость, устойчивость и биологическую активность его компонентов, а также возможность их отдельного определения, в качестве индикаторных соединений выбрали катехин (**КТ**), эпикатехин (**ЭКТ**), галловую кислоту (**ГК**) и кофеин (**КФ**). Эти соединения экстрагировали горячей водой, разделяли в режиме градиентного элюирования и определяли методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектором в УФ-области. Прямое количественное определение КТ и ЭКТ при 210 нм, а ГК и КФ при 270 нм возможно, если содержания аналитов в экстракте выше 1 мкг/мл. Методика обеспечивает полное разделение аналитов, отсутствие влияния посторонних веществ и прецизионность результатов ($s_r < 7\%$). Длительность анализа одной пробы около 1.5 ч. Правильность результатов подтверждена методом «введено-найденно». Полученные данные согласуются с результатами анализа тех же проб методом КЭ. По разработанной методике проанализированы экстракты 42 образцов черного чая (14 торговых наименований, различающихся по биологическому виду чайного растения). Для всех образцов найденные содержания аналитов снижаются в ряду КФ > ГК > ЭКТ > КТ. Усредненные содержания «макрокомпонентов» (КФ и ГК) в экстрактах из разных образцов довольно близки. Значительно сильнее (в 4-5 раз) различаются содержания «микрокомпонентов» (ЭКТ, а также КТ), что нельзя объяснить случайными погрешностями анализа. Содержания КТ и ЭКТ в разных образцах достоверно закоррелированы. Сильно меняющееся от образца к образцу содержание ЭКТ (или КТ) в экстракте может быть новым показателем качества черного чая, более информативным, чем обычно применяемые интегральные показатели. Охарактеризованы значимость полученных результатов и перспективы их практического использования.

Ключевые слова: ВЭЖХ, фенольные соединения, катехины, черный чай, анализ чая, показатели качества, выбор показателей.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2015, vol. 19, no. 4, pp. 323-330
DOI: 10.15826/analitika.2015.19.4.011

HPLC determination and estimation of gallic acid, catechin, caffeine and epicatechin content in black tea extracts

Mareeva D.O., Tsytko T.G.*, Milevskaia V.V., Temerdashev A.Z.

*Federal State Educational Institution Kuban State University,
ul. Stavropolskaya, 149, Krasnodar, 350040, Russian Federation*

*Corresponding author: Tat'yana G. Tsytko, E-mail: tsytko@inbox.ru

Submitted 27 November 2014, received in revised form 8 November 2015

Catechins, contained in tea, exhibit biological activity with its antioxidant, anticarcinogenic and antimutagenic properties. Catechins and other individual substances contained in the tea extract can be detected using the chromatographic method (**HPLC**) or the capillary electrophoresis (**CE**). Taking into account the composition of the tea, the extractability, stability and biological activity of its components, and the opportunity of their simultaneous determination, Catechin (**CT**), Epicatechin (**ECT**), Gallic acid (**GC**) and caffeine (**CF**) were chosen as the indicator substances. These substances were extracted with hot water, separated in gradient elution conditions and determined by diode-array detector in UV-spectra. Direct quantitative determination of CT and ECT at 210 nm, GC and CF at 270 nm is possible if the analyte content in the extract is above 1 µg/ml.

The developed method provides a complete separation of analytes, absence of foreign substances influences and the precision of the results ($s_r < 7\%$). The duration of the analysis of one sample was about 1.5 hours. The accuracy of the results was confirmed by the "added-found" method. The resulting data is consistent with the results of the analysis of the same samples by CE. According to the developed method the extracts of 14 black tea samples, which differed according to the type of tea plants and trade names, were analyzed. For all samples the analytes' contents found reduced in a $CF > GC > ECT > CT$ sequence. The average content of "macrocomponents" (GC and CF) in the extracts of different samples was rather close. The content of "microcomponents" (ECT, as well CT) differed significantly more (4-5 times), and this cannot be explained by the random errors in the analysis. The content of CT and ECT in different samples was correlated. The greatly varying ECT (or CT) content in the extract from one sample to the other may be a new indicator of the quality of black tea and more informative than the commonly used integrated indicators. In conclusion, the significance of the obtained results and the perspectives of their practical application were discussed.

Key words: HPLC, phenolic compounds, catechins, black tea, analysis of tea, quality measures, identification of quality measures.

Введение

Цвет, аромат, терпкость и вяжущий вкус чайного напитка формируют фенольные соединения, входящие в состав чая. Многие из них (особенно катехины) проявляют биологическую активность, обуславливая антиоксидантные, антиканцерогенные и антимуtagenные свойства чая [1-6]. В чайном таннине, представляющем смесь соединений полифенольного типа, на катехины и их эфиры (галлаты) приходится не менее 90 % массы. Общее содержание и соотношение разных катехинов и других антиоксидантов (галловая кислота, эпикатехингаллат, таннины) зависят от биологического вида чайного растения, климатических условий, времени сбора, технологии обработки чайного листа, а также некоторых других факторов [7-11].

Нормативные документы по аналитическому контролю качества чая предусматривают лишь определение *интегральных показателей*, то есть оценку суммарного содержания фенольных соединений по Фолину-Чоикальтео и суммарного содержания таннинов [12, 13]. С помощью интегральных показателей нельзя в полной мере оценить качество чая, обнаружить нарушения технологического процесса или выявить фальсифицированные продукты. Для определения суммарного содержания близких по свойствам органических веществ, входящих в состав чайного листа, применяют спектрофотометрию, потенциометрию, кулонометрию и другие методы, которые трудно или невозможно использовать для определения индивидуальных соединений в их смесях [3, 6, 14-16].

Актуальной задачей является разработка методик определения *индивидуальных соединений*, по содержанию которых можно было бы объективно оценить качество продукта, а также получить интересную для потребителей информацию о биологически активных веществах, поступающих в организм с чайным напитком. Для этой цели можно использовать высокоэффективную жидкостную хроматографию [17-22], а также капиллярный электрофорез (КЭ) [21-25]. Компоненты чайного экстракта после их хроматографического разделения надежно опознаются с помощью масс-спектрометрического детектора. Содержания ряда феноль-

ных соединений в экстракте довольно высоки (от 1 до 100 мкг/мл), что позволяет проводить их прямое диодно-матричное детектирование в УФ области.

Учитывая биологическую активность, экстрагируемость и устойчивость компонентов чайного экстракта, а также возможность их отдельного определения, в качестве индикаторных соединений мы выбрали катехин (КТ), эпикатехин (ЭКТ), галловую кислоту (ГК) и кофеин (КФ). Известно, что содержания этих веществ зависят от зрелости чайного листа и технологии его обработки [9, 10]. В частности, содержание ГК значительно повышается на этапе ферментации чая за счет окислительно-восстановительных процессов, а затем не меняется. Катехин, эпикатехин и кофеин более устойчивы, их содержания остаются неизменными как в процессе обработки чайного листа, так и при хранении готового продукта [26]. Однако известные методики хроматографического определения этих соединений не приспособлены для массовых анализов, а метрологические характеристики этих методик, как правило, неизвестны. Имеющиеся в литературе данные по содержанию индивидуальных соединений в разных образцах чая ограничены, противоречивы и несопоставимы, поскольку получены по разным методикам.

Цели настоящей работы: 1) выбор условий хроматографического определения ГК, КТ, ЭКТ и КФ в экстракте черного чая; 2) определение этих веществ в разных образцах черного чая по разработанной методике. Выполнение соответствующих исследований важно для обоснования нового способа аналитического контроля качества чая.

Материалы и методика исследований

Растворы галловой кислоты, (+)-катехина, кофеина и (-)-эпикатехина с концентрацией 1 г/л готовили растворением точных навесок индивидуальных соединений в ацетонитриле сорта 0 (ос.ч., Крioxром, Санкт-Петербург, Россия). Проверка показала, что оптические изомеры КТ (а также ЭКТ) не разделяются в ходе хроматографического анализа их смесей, а при фиксированной длине волны определяются с одинаковой чувствительностью. Поэтому анализ чайных экстрактов по разработанной методике позволяет оценить суммарное содер-

жание оптических изомеров каждого катехина, а не какого-либо из них в отдельности.

Образцы черного чая разного биологического вида и разных наименований приобретали в торговой сети. Экстракты всех образцов получали по одной и той же методике [12]. Для этого навеску измельченного чая массой 2.5000 ± 0.0002 г помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, заливали 200 мл кипящей дистиллированной воды и выдерживали на кипящей водяной бане в течение 45 минут. Экстракт отделяли от анализируемого материала и количественно переносили в мерную колбу вместимостью 250 мл, охлаждали до комнатной температуры и доводили объем раствора до метки дистиллированной водой. Перед проведением хроматографического анализа, полученный раствор фильтровали через полипропиленовые шприцевые фильтры с диаметром пор 0.22 мкм (Whatman, UK).

Анализ водных экстрактов чая методом ВЭЖХ. Экстракты анализировали, используя жидкостной хроматограф Shimadzu LC-20 Prominence с диодно-матричным детектором SPD-M20A, под управлением ПО LСSolution. Для разделения использовали аналитическую колонку Luna C18(2) (250 мм × 2 мм, 5 мкм) (Phenomenex, USA). Температура колонки 40 °С. Скорость потока подвижной фазы 0.4 мл/мин. Объем вводимой пробы 1 мкл. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила (А) и 0.04 М фосфатного буферного раствора с рН = 3 (В). Градиентное элюирование при проведении ВЭЖХ-ДМД анализа осуществляли по следующей программе:

- 1.5 минуты плато 2 % (А), 98 % (В);
- за 15.5 минут переход от 2 % (А) и 98 % (В) к 20 % (А) и 80 % (В) с последующим плато в течение 1.5 минут;
- за 1 минуту переход от 20 % (А) и 80 % (В) к 60 % (А) и 40 % (В) с последующим плато в течение 6 минут;
- за 1.5 минуты переход от 60 % (А) и 40 % (В) к 40 % (А) и 60 % (В) с последующим возвратом к элюенту первой ступени в течение 3.5 минут и пятиминутным плато.

Общее время хроматографического разделения анализов составляло 33 минуты.

Анализ водных экстрактов чая методом КЭ. Электрофоретическое разделение анализов проводили с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель 105» (НПФ АП «Люмекс») с положительной полярностью, УФ-детектором и пневматическим вводом пробы. Использовали немодифицированный кварцевый капилляр с внешней полиамидной пленкой длиной 60 (50) см и внутренним диаметром 75 мкм, прозрачный в УФ-области спектра. В качестве ведущего электролита применяли 0.025 М фосфатный буферный раствор с рН = 7, содержащий 30 мМ додецилсульфата натрия, с добавлением 5 % этилового спирта. Между анализами капилляр промывали буферным раствором.

Перед проведением анализа, экстракты чая фильтровали через полипропиленовые шприцевые фильтры с диаметром пор 0.22 мкм (Whatman, UK), разбавляли дистиллированной водой в два раза; полученный раствор центрифугировали в течение 2 минут со скоростью вращения 6000 мин⁻¹.

Условия электрофоретического определения КФ, КТ, ЭКТ, ГК : ввод пробы в капилляр пневматическим способом (давление 30 мбар), время ввода – 10 с; напряжение – 25 кВ; температура – 25 °С; длина волны детектирования – 210 нм; время регистрации электрофореграммы – 11 минут.

Результаты и их обсуждение

Выбор условий анализа. Для экстракционного извлечения фенольных соединений из растительного сырья применяют органические растворители (метанол, диэтиловый эфир, этилацетат), их смеси (метанол-ацетонитрил), водно-органические системы и воду. Несмотря на ограниченную растворимость катехинов в воде и возможность элимеризации полифенолов в ходе термообработки [21, 23], их экстракция горячей водой представляет наибольший теоретический и практический интерес. Водные экстракты чая содержат большое ко-

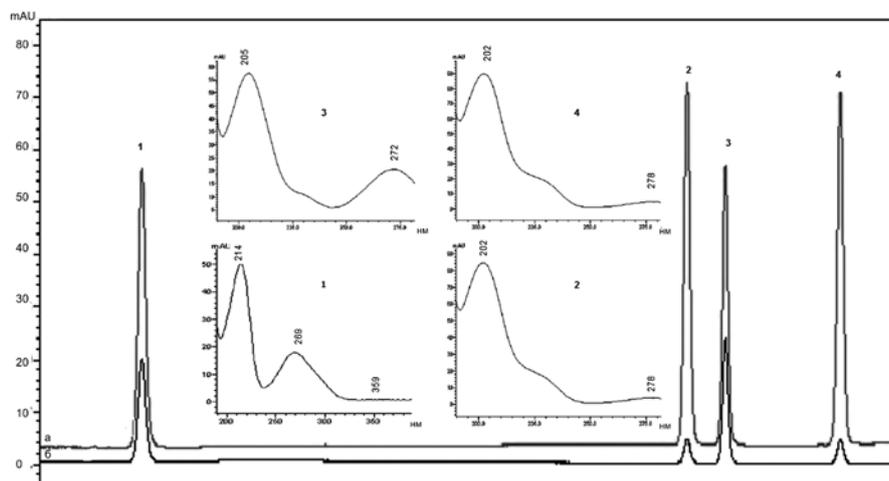


Рис. 1. Хроматограммы модельной смеси ГК (1), КТ (2), КФ (3) и ЭКТ (4) при длине волны детектирования 210 (а) и 270 нм (б). На вставке – УФ-спектры тех же соединений. Условия хроматографирования приведены в тексте

личество соэкстрагируемых веществ, что ведет к необходимости градиентного элюирования и определяет условия детектирования компонентов после их разделения.

В спектрах поглощения водных растворов катехинов, кофеина и галловой кислоты имеются два максимума – при 200-210 и 270-280 нм, причем первый характеризуется большей интенсивностью (рис. 1). Обычно вещества фенольной природы детектируют при 200-210 нм, хотя в этих условиях поглощают и другие соединения. Для повышения селективности детектирование фенольных соединений иногда ведут при 270-280 нм [21, 24-27]. Учитывая относительное содержание разных аналитов в водных экстрактах черного чая и чувствительность их определения при разных длинах волн, мы измеряли сигналы КТ и ЭКТ при 210 нм, а сигналы ГК и КФ – при 270 нм. Снижение чувствительности определения ГК и КФ при 270 нм вполне допустимо, так как их содержания в экстрактах значительно выше, чем содержания катехинов.

Состав подвижной фазы (ПФ) выбирали на основании литературных данных, учитывая уровень фонового поглощения и устойчивость аналитов. Известно, что в щелочной среде многие фенольные соединения неустойчивы. Элюирующая смесь фосфатного буферного раствора (рН = 3) и ацетонитрила обеспечивает устойчивость определяемых веществ [27] и характеризуется низким фоновым поглощением при 210 нм. Эта смесь и была использована при проведении дальнейших исследований. При отработке программы градиентного элюирования добивались получения узких симметричных пиков и максимального разделения определяемых компонентов. Пики на хроматограммах чайных экстрактов опознавали по временам удерживания и спектральным данным, в частности, по соотношению площадей пиков при 210 и 270 нм (рис. 1).

Отношения площадей пиков S_{210}/S_{270} для индивидуальных аналитов составляют: ГК – 2.7, КФ – 2.3, ЭКТ и КТ – 16 единиц. Эти соотношения не зависят от концентрации компонентов. Те же от-

ношения характерны для соответствующих пиков на хроматограммах чайных экстрактов (рис. 2), что подтверждает правильность идентификации аналитов и отсутствие наложений.

Характеристики методики и ее проверка.

Для всех аналитов были установлены пределы их обнаружения C_{min} , нижние границы определяемых концентраций (НГОК), диапазоны линейности и характеристики градуировочных зависимостей вида $y = bx$ при выбранной длине волны детектирования λ . Эти характеристики приведены в табл. 1.

Для проверки разработанной методики ГК, КТ, КФ и ЭКТ определяли в их модельных смесях по предварительно полученным градуировочным зависимостям. Погрешности определения всех аналитов имели преимущественно случайный характер, а по модулю не превышали 7 %. Правильность определения искомых компонентов в чайных экстрактах была подтверждена методом «введено-найденно» с использованием образца чая «Принцесса Нури». Добавки всех аналитов были определены с погрешностями, не превышавшими 10 %.

Тот же экстракт был проанализирован методом КЭ, при этом использовали технику мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ). Соответствующая методика описана в работе [21]. Сравнение по t -критерию результатов, полученных разными методами, не выявило статистически значимых различий между ними ($\alpha < 0.05$), что подтверждает правильность определения ГК, КТ, КФ, ЭКТ по разработанной нами методике (табл. 2).

Результаты анализа разных образцов черного чая. Используя предложенную методику, мы провели анализ 42 образцов черного чая 14 наименований. Для чая одного наименования отбирали не менее трех образцов, отличающихся маркировкой партии. Проведенные исследования показали, что содержания ГК, КТ, КФ и ЭКТ в экстрактах, полученных из разных партий чая одного наименования, различаются незначительно, в пределах погрешности измерений. Это позволило усреднить

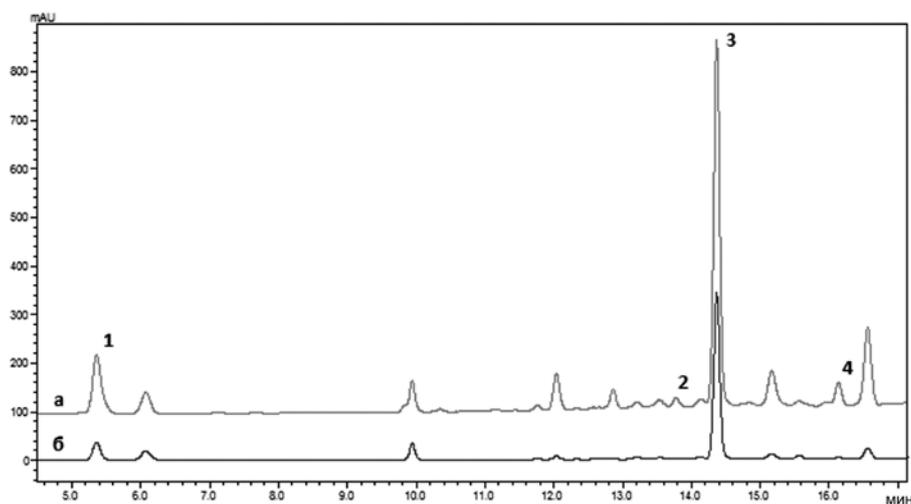


Рис. 2. Хроматограммы экстракта чая «Greenfield Premium Assam» при длине волны детектирования 210 (а) и 270 нм (б). Обозначения пиков – как на рис. 1. Условия хроматографирования приведены в тексте

Таблица 1

Метрологические характеристики методики хроматографического определения ГК, КТ, КФ и ЭКТ в чайных экстрактах

Аналит	λ , нм	Диапазон линейности, мкг/мл	Характеристики градуировки		C_{\min} , мкг/мл	НГОК, мкг/мл
			$b \cdot 10^{-3}$	R^2		
ГК	270	5 - 100	8.3±0.4	1.000	0.2	0.5
КФ	270	15 - 350	7.3±0.1	0.999	0.2	0.5
КТ	210	0.7 - 50	26.3±1.2	1.000	0.3	0.5
ЭКТ	210	2.5 - 50	23.6±1.3	0.999	0.4	0.6

результаты анализа, полученные для продуктов одного наименования. Напротив, экстракты, полученные из чая разных наименований, достоверно различаются по содержанию некоторых аналитов (табл. 3). Проверка по критерию Кохрена показала статистическую однородность этих результатов и возможность сравнения средних значений по критерию Стьюдента. Результаты соответствующих расчетов показывают, что для всех исследованных образцов наблюдается одна и та же закономерность:

$$\text{КФ} \gg \text{ГК} > \text{ЭКТ} \gg \text{КТ},$$

то есть массовое содержание кофеина в любом образце черного чая достоверно выше, чем содержание галловой кислоты, эпикатехина и особенно катехина. Выявленная закономерность согласуется с литературными данными [10,17,19].

При переходе от одного образца чая к другому содержания изомерных катехинов (КТ и ЭКТ) меняются синхронно. Обнаружена достоверная ($\alpha < 0.05$) линейная корреляция между содержаниями КТ и ЭКТ ($r = 0.764$ при $r_{\text{крит}} = 0.532$). Для других пар аналитов подобные корреляции не наблюдаются.

Таблица 2

Результаты определения ГК, КФ, КТ и ЭКТ в экстракте чая «Принцесса Нури» (в пересчете на массу чая)

Аналит	Результат анализа, мг/г	
	ВЭЖХ	МЭКХ
ГК	4.9 ± 0.2	4.6 ± 0.5
КТ	0.35 ± 0.05	0.34 ± 0.03
КФ	20.4 ± 0.9	21.0 ± 0.8
ЭКТ	1.9 ± 0.2	1.7 ± 0.2

Статистический анализ полученных данных показывает, что различия разных образцов чая по содержанию одного и того же аналита достоверны и не могут быть объяснены случайными погрешностями анализа. Однако такие различия выражены в разной степени. А именно, в выборке изученных нами образцов максимальные и минимальные содержания КФ (а также ГК) различаются в 1.5-2 раза. Для КТ и ЭКТ эти соотношения существенно выше, они составляют 4-5 единиц. Степень вариабельности каждого показателя можно охарактеризовать и другим способом, рассчитывая выборочные ($n = 14$) коэффициенты вариации (V , %) для разных анали-

Таблица 3

Усредненные содержания ГК, КФ, КТ и ЭКТ в экстрактах образцов чая разных наименований, в пересчете на массу чая (мг/г). $n = 9$, $P = 0.95$

Наименование чая	КФ	ГК	ЭКТ	КТ
<i>Цейлонский биологический вид растения</i>				
Greenfield Golden Ceylon	29.9 ± 1.0	6.5 ± 0.9	2.3 ± 0.4	0.34 ± 0.04
Ahmad tea English Breakfast	31.5 ± 1.4	4.78 ± 0.14	1.40 ± 0.05	0.34 ± 0.05
Akbar	27.5 ± 0.4	5.03 ± 0.14	1.65 ± 0.10	0.27 ± 0.02
Принцесса Нури	29.6 ± 0.8	4.3 ± 0.5	1.68 ± 0.16	0.39 ± 0.06
Riston	32.7 ± 0.9	5.75 ± 0.16	1.77 ± 0.12	0.38 ± 0.07
Майский	25.8 ± 0.6	4.51 ± 0.10	0.96 ± 0.29	0.22 ± 0.04
Dilmah	26.3 ± 0.8	4.84 ± 0.21	1.08 ± 0.06	0.19 ± 0.02
<i>Индийский биологический вид растения</i>				
Greenfield Premium Assam	30.7 ± 1.2	4.07 ± 0.42	1.56 ± 0.24	0.64 ± 0.10
Greenfield Classic Breakfast	31.9 ± 1.2	4.29 ± 0.09	1.15 ± 0.26	0.60 ± 0.04
<i>Китайский биологический вид растения</i>				
Greenfield Magic Yunnan	29.4 ± 0.6	3.78 ± 0.29	3.54 ± 0.20	0.92 ± 0.05
<i>Кенийский биологический вид растения</i>				
Greenfield Kenyan Sunrise	24.5 ± 0.6	4.47 ± 0.28	1.52 ± 0.17	0.45 ± 0.10
Maître de thé	28.1 ± 1.5	4.73 ± 0.15	3.71 ± 0.26	0.77 ± 0.06
<i>Китайский (районированный) биологический вид растения</i>				
Краснодарский, ЗАО «Дагомысчай»	28.8 ± 1.3	4.1 ± 0.5	1.12 ± 0.11	0.28 ± 0.04
Краснодарский, «Matsesta tea»	21.9 ± 0.8	3.3 ± 1.0	1.39 ± 0.06	0.21 ± 0.02

тов. Значения *W* оказались равными: 11 % для КФ, 17% для ГК, 48 % для ЭКТ и 53% для КТ.

Результаты анализа экстрактов, относящихся к растениям разного биологического вида, позволяют выявить интересные закономерности. Так, для цейлонского чая содержания КФ в пересчете на массу чая находятся в диапазоне от 25.8 до 32.7 мг/г при среднем содержании 28.6 мг/г. Примерно такие же содержания КФ характерны для индийского или китайского чая, то есть судить о биологическом виде чая по содержанию КФ нельзя. Более переменные показатели КТ и ЭКТ в этом отношении более информативны. В частности, содержания ЭКТ в образцах Краснодарского чая существенно ниже, чем в образцах индийского, китайского или кенийского чая, что, по-видимому, обусловлено биологическим видом чайного растения. Вариабельность разных показателей в зависимости от вида растения наглядно видна для образцов с торговым наименованием Greenfield после нормирования результатов анализа по одному из образцов. Нормированные по образцу № 1 содержания КФ и ГК в экстрактах из образцов чая разного биологического вида мало различаются, тогда как нормированные содержания КТ и ЭКТ сильно и синхронно варьируют (рис.3).

Заключение

Предложенная методика хроматографического анализа экстрактов из образцов черного чая позволяет достаточно точно ($\pm 10\%$) и быстро (за 1.5 часа) определять как катехины (КТ и ЭКТ), так и другие индивидуальные соединения (КФ и ГК). В оптими-

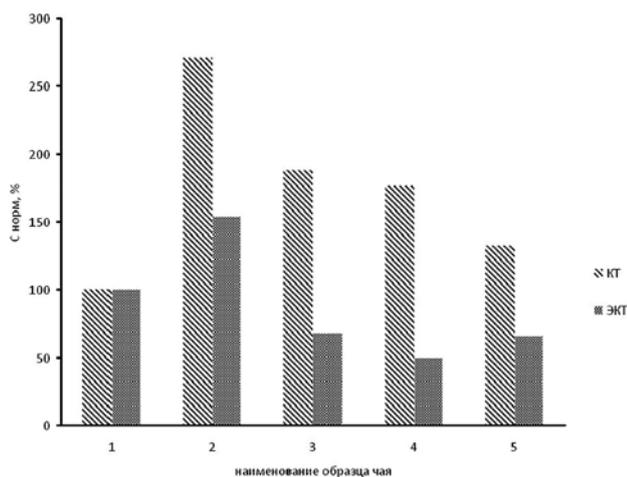


Рис. 3. Нормированные содержания индивидуальных катехинов в экстрактах черного чая торгового наименования Greenfield (образцы разного биологического вида растения). 1 – цейлонский чай Golden Ceylon (по содержаниям аналитов в образце проведена нормировка); 2 – китайский чай Magic Yunnan; 3 – индийский чай Premium Assam; 4 – индийский чай Classic Breakfast; 5 – кенийский чай Kenyan Sunrise. Заштрихованные фигуры отвечают содержанию КТ, затемненные – содержанию ЭКТ

зированных условиях эти соединения определяются из одной навески чая без предварительного разбавления или концентрирования экстракта. Правильность результатов анализа подтверждена путем анализа смесей известного состава и реальных экстрактов (метод «введено-найден»). Результаты хроматографического анализа согласуются с данными, полученными для тех же образцов референтным методом (капиллярный электрофорез в варианте МЭКХ). Разработанная методика хроматографического определения микрограммовых количеств разных аналитов была применена для сопоставительного анализа образцов черного чая, различающихся по биологическому виду чайного растения и торговому наименованию. Наиболее важными результатами исследования являются следующие выводы:

1. Содержания индивидуальных катехинов (КТ и ЭКТ) в водных экстрактах из любых образцов черного чая существенно ниже, чем содержания ГК и КФ.
2. Содержания макрокомпонентов (например, КФ) в экстрактах из разных образцов черного чая различаются не более чем в два раза, а потому вряд ли могут быть использованы для аналитического контроля качества чая или для выявления биологического вида чайного растения.
3. Содержания микрокомпонентов чайных экстрактов (ЭКТ и КТ) сильно варьируют при переходе от одного образца к другому. Поэтому содержание одного из изомерных катехинов является перспективным показателем качества чая. Поскольку содержания ЭКТ и КТ линейно коррелированы, выбор того или иного катехина в качестве индикаторного соединения не столь важен.

Возможность выявления принадлежности чая к определенному биологическому виду, как и возможность оценки его качества по содержанию ЭКТ (или КТ) в чайном экстракте, требуют дальнейшей проверки с использованием гораздо более представительной выборки образцов. В ходе дальнейших исследований необходимо сопоставить значения нового показателя с известными показателями качества чая, в частности – с определяемыми по стандартным методикам интегральными показателями состава. Еще одной интересной задачей является разработка нормативных содержаний индивидуальных катехинов.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты №№ 14-03-00812 и 13-03-96506).

Acknowledgements

The work was supported by RFFI (grants №№ 14-03-00812 and 13-03-96506).

ЛИТЕРАТУРА

1. Engelhardt U.H. Chemistry of tea // *Comprehensive natural products II. Chemistry and Biology*: eds. L. Mander & H.W. Liu. UK, Elsevier Ltd. 2010. P. 1000-1027.
2. Xuczaj W., Skrzydlewska E. Antioxidative properties of black tea. Review // *Prev. Med.* 2005. V. 40. P. 910-918.
3. Качество пищевых продуктов и антиоксидантная активность / Е.Н. Шарафутдинова [и др.] // *Аналитика и контроль*. 2011. Т.5, № 3. С. 281-286.
4. Антиоксидантная активность настоев чая / А.А. Федосеева [и др.] // *Химия растительного сырья*. 2008. № 3. С. 123-127.
5. Gupta S., Saha B., Giri A.K. Comparative antimutagenic and anticlastogenic effects of green tea and black tea: a review // *Rev. Mutat. Res.* 2002. V. 512, № 1. P. 37-65.
6. Зиятдинова Г.К., Низамова А.М., Будников Г.К. Гальваностатическая кулонометрия в анализе природных полифенолов и ее применение в фармации // *Ж. аналит. химии*. 2010. Т.65, № 11. С.1202-1206.
7. Цоциашвили И.И., Бокучава М.А. Химия и технология чая. М.: Агропромиздат, 1989. 391 с.
8. Бокучава М.А. Биохимия чая и чайного производства. М.: Изд-во АН СССР, 1958. 586 с.
9. Джинджолия Р. Р., Кобахидзе Ш. К. Полифенольные соединения чайного листа и готового чая. Тбилиси: Мецниереба, 1987. 163 с.
10. Татарченко И.И., Мохначёв И.Г., Касьянов Г.И. Химия субтропических и пищевкусных продуктов: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений М.: Издательский центр «Академия», 2003. 256 с.
11. Effects of season and plantation on phenolic content of unfermented and fermented Sri Lankan tea / S. Jayasekera [et al.] // *Food Chem.* 2014. V. 152. P. 546-551.
12. ГОСТ 19885-74. Чай. Методы определения содержания танина и кофеина. М., 2009. 5 с.
13. ГОСТ Р ИСО 14502-1 – 2010 Чай. Метод определения общего содержания полифенолов. М., 2012. 16 с.
14. Сажина Н. Н., Мисин В. М., Ордян А. Е. Суммарное содержание фенольных антиоксидантов в экстрактах чая, растительных добавок и их смесей // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2011. № 03. С. 51-53.
15. Оценка стабильности содержания фенольных соединений и флавоноидов в лекарственных растениях в процессе их хранения / З.А. Темердашев [и др.] // *Химия растительного сырья*. 2011. № 4. С. 179-184.
16. Евлашенкова И.В., Аскалепова О.И., Алешина И.Г. Определение содержания кофеина в чае и кофе классическими аналитическими методами // *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*. 2000. № 2-3. С. 88-90.
17. Dalluge J. J., Nelson B. C. Determination of tea catechins // *J. of Chromatogr. A.* 2000. V. 881. P. 411-424.
18. Ignat I., Volf I., Popa V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables // *Food Chem.* 2011. V. 126. P. 1821-1835.
19. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Хроматографические методы анализа химического состава чая // *Партнеры и конкуренты*. 2004. № 4. С. 19-23.
20. Шафигулин Р.В., Буланова А.В., Ро К.Х. Хроматографический анализ флавоноидов, содержащихся в чае // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2006. Т. 6, № 5. С. 844-850.
21. Карцова Л.А., Алексеева А.В. Хроматографические и электрофоретические методы определения полифенольных соединений // *Ж. аналит. химии*. 2008. Т.63, № 11. С.1126-1136.
22. HPLC-DAD-ESI-MS/MS analysis of polyphenols and purine alkaloids in leaves of 22 tea cultivars in China / D. Wang. [et al.] // *J. Food Composition Anal.* 2008. V. 21. P. 361-369.
23. Horie H., Kohata, K. Application of capillary electrophoresis to tea quality estimation // *J. of Chromatogr. A.* 1998. V. 802. P. 219-223.
24. Price K.R., Rhodes M.J.C., Barnes K.A. Flavonol Glycoside Content and Composition of Tea Infusions Made from Commercially Available Teas and Tea Products // *J. Agric. Food Chem.* 1998. V. 46. P. 2517-2522.
25. Comparative analysis of tea catechins and theaflavins by highperformance liquid chromatography and capillary electrophoresis / Lee B.-L. [et al.] // *J. of Chromatogr. A.* 2000. V. 881. P. 439-447.
26. Wang H., Helliwell K., You X. Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC // *Food Chem.* 2000. V. 68. P. 115-121.
27. Stodt U., Engelhardt U. H. Progress in the analysis of selected tea constituents over the past 20 years // *Food Research International*. 2013. V.53. P. 636-648.
28. Темердашев З.А., Фролова Н.А., Колычев И.А. Определение фенольных соединений в лекарственных растениях методом обращено-фазовой ВЭЖХ // *Ж. аналит. химии*. 2011, Т. 66, №4. С. 417-424.

REFERENCES

1. Engelhardt U.H. Chemistry of tea. *Comprehensive natural products II. Chemistry and Biology*: eds. L. Mander & H.W. Liu. UK, Elsevier Ltd., 2010, pp. 1000-1027. doi: 10.1016/b978-0-12-409547-2.02784-0.
2. Xuczaj W., Skrzydlewska E. Antioxidative properties of black tea. Review. *Prev. Med.*, 2005, vol. 40, pp. 910-918. doi: 10.1016/j.yjmed.2004.10.014.
3. Sharafutdinova E.N., Ivanova A.V., Matern A.I., Brainina Kh.Z. [Food quality and antioxidant activity]. *Analitika i kontrol'* [Analytically and control], 2011, vol. 5, no. 3, pp. 281-286 (in Russian).
4. Fedoseeva A.A., Lebedkova O.S., Kanibolotskaia L.V., Shendrik A.N. [The antioxidant activity of tea infusions]. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia* [Chemistry of plant raw materials], 2008, no. 3, pp. 123-127 (in Russian).
5. Gupta S., Saha B., Giri A.K. Comparative antimutagenic and anticlastogenic effects of green tea and black tea: a review. *Rev. Mutat. Res.*, 2002, vol. 512, no. 1, pp. 37-65. doi: 10.1016/S1383-5742(02)00024-8.
6. Ziatdinova G.K., Nizamova A.M., Budnikov G.K. Galvanostatic coulometry in the analysis of natural polyphenols and its use in pharmacy // *Journal of Analytical Chemistry*, 2010, vol.65, n. 11, pp.1202-1206. doi: 10.1134/S1061934810110146.
7. Tsotsiashvili I.I., Bokuchava M.A. *Khimiia i tekhnologiia chaia* [Chemistry and Technology of tea]. Moscow, Agropromizdat Publ, 1989. 391 p. (in Russian).
8. Bokuchava M.A. *Biokhimiia chaia i chainogo proizvodstva* [Biochemistry of tea and tea production]. Moscow, Academy of Sciences of the USSR Publ., 1958. 586 p. (in Russian).
9. Dzhindzholiia R. R., Kobakhidze Sh. K. *Polifenol'nye soedineniia chainogo lista i gotovogo chaia* [Polyphenolic compounds of tea leaves and made tea]. Tbilisi: Metsniereba, 1987. 163 p. (in Russian).
10. Tatarchenko I.I., Mokhnachev I.G., Kas'ianov G.I. *Khimiia subtropicheskikh i pishchevkusovykh produktov: uchebnoe posobie dlia studentov vysshikh uchebnykh zavedenii*

[Chemistry subtropical and flavoring products: Textbook for university students]. Moscow, Academy Publ., 2003. 256 p. (in Russian).

11. Jayasekera S., Kaur L., Molan A.L., Garg M.L., Moughan P.J. Effects of season and plantation on phenolic content of unfermented and fermented Sri Lankan tea. *Food Chem.*, 2014, vol. 152, pp. 546-551. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.005.
12. GOST 19885-74. *Chai. Metody opredeleniia soderzhaniia tanina i kofeina* [State standart 19885-1974. Tea. Methods for determination of tannin and coffeine content]. Moscow, Standartinform Publ., 2009. 5 p. (in Russian)
13. GOST R ISO 14502-1 – 2010. *Chai. Metody opredeleniia obshchego soderzhaniia polyfenolov* [ISO 14502-1:2005. Determination of substances characteristic of green and black tea – Part 1: Content of total polyphenols in tea – Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent (IDT)]. Moscow, Standartinform Publ., 2012. 16 p. (in Russian)
14. Sazhina N.N., Misin V.M., Ordian A.E. [The total content of phenolic antioxidants in the extracts of tea, herbal supplements and their mixtures]. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyria* [Storage and processing of agricultural raw materials], 2011, no. 3, pp. 51-53 (in Russian).
15. Temerdashev Z. A., Frolova N.A., Tsytko T.G., Chuprynikina D.A. [Evaluation of the stability of phenolic compounds and flavonoids in medicinal plants during storage]// *Khimiia rastitel'nogo syr'ia* [Chemistry of plant raw materials], 2011, n. 4, pp. 179-184 (in Russian).
16. Evlashenkova I.V., Askalepova O.I., Aleshina I.G. [Determination of content of caffeine in tea and coffee by classical analytical methods]. *Izvestiia vysshikh uchebnykh zavedenii. Pishchevaia tekhnologiya* [Proceedings of the higher educational institutions. Food technology], 2000, no. 2-3, pp. 88-90 (in Russian).
17. Dalluge J.J., Nelson B.C. Determination of tea catechins. *J. Chromatogr. A.*, 2000, vol. 881, pp. 411-424. doi: 10.1016/S0021-9673(00)00062-5.
18. Ignat I., Volf I., Popa V.I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.*, 2011, vol. 126, pp. 1821-1835. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.026.
19. Iashin Ia.I., Iashin A.Ia. [Chromatographic methods of analysis of the chemical composition of tea]. *Partnery i konkurenty* [Partners and competitors], 2004, no. 4, pp. 19-23 (in Russian).
20. Shafigulin R.V., Bulanova A.V., Ro K.Kh. [Chromatographic analysis of flavonoids contained in tea]. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy* [Sorption and chromatographic processes], 2006, vol. 6, no. 5, pp. 844-850 (in Russian).
21. Kartsova L.A., Alekseeva A.V. Chromatographic and electrophoretic methods for determination polyphenol compounds. *Journal of Analytical Chemistry*, 2008, vol. 63, no. 11, pp. 1124-1133. doi: 10.1134/s1061934808110026.
22. Wanga D., Lua J., Miaob A., Xiea Z., Yanga D. HPLC-DAD-ESI-MS/MS analysis of polyphenols and purine alkaloids in leaves of 22 tea cultivars in China. *J. Food Composition Anal.*, 2008, vol. 21, pp. 361-369. doi: 10.1016/j.jfca.2008.01.002.
23. Horie H., Kohata, K. Application of capillary electrophoresis to tea quality estimation // *J. of Chromatogr. A.*, 1998, vol. 802, pp. 219-223. doi: 10.1016/S0021-9673(97)01069-8.
24. Price K.R., Rhodes M.J.C., Barnes K.A. Flavonol Glycoside Content and Composition of Tea Infusions Made from Commercially Available Teas and Tea Products. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, vol. 46, pp. 2517-2522. doi: 10.1021/jf9800211.
25. Lee B.-L., Ong C.-N., Wang D., Lua J., Miaob A., Xiea Z., Yanga D. Comparative analysis of tea catechins and theaflavins by highperformance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *J. of Chromatogr. A.*, 2000, vol. 881, pp. 439-447. doi: 10.1016/j.jfca.2008.01.002.
26. Wang H., Helliwell K., You X. Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. *Food Chem.*, 2000, vol. 68, pp. 115-121. doi: 10.1016/s0308-8146(99)00179-x.
27. Stodt U., Engelhardt U.H. Progress in the analysis of selected tea constituents over the past 20 years. *Food Research International*, 2013, vol. 53, pp. 636-648. doi: 10.1016/j.foodres.2012.12.052.
28. Temerdashev Z. A., Frolova N. A., Kolychev I. A. Determination of phenolic compounds in medicinal herbs by reversed-phase HPLC. *Journal of Analytical Chemistry*, 2011, Vol. 66, No. 4, pp. 417-424. doi: 10.1134/S1061934811040150.