

藤茶不同部位制茶后功能性成分的含量比较

陈倩¹, 张雨林¹, 刘赫男², 赵爱¹, 李自倡¹, 何桂霞^{1*} (1.湖南中医药大学药学院, 长沙 410208; 2.湖南中医药大学第二附属医院, 长沙 410005)

摘要: 目的 比较藤茶不同部位制茶后的功能性成分总黄酮、二氢杨梅素、总糖、多糖的含量。方法 以 70% 的乙醇溶液提取藤茶中的总黄酮, 以二氢杨梅素为对照品在紫外分光光度计 292 nm 测定藤茶不同部位总黄酮含量; 采用 Hypersil BDS C₁₈ 柱, 流动相为甲醇-水-磷酸(35:65:0.1), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, HPLC 292 nm 处测定藤茶不同部位二氢杨梅素含量; 以蒸馏水为溶剂提取藤茶中的总糖, 用 80% 乙醇醇沉得到多糖, 采用硫酸-苯酚法显色, 以葡萄糖为对照品在紫外分光光度计 490 nm 测定藤茶不同部位总糖和多糖含量。结果 藤茶不同部位制茶后总黄酮、二氢杨梅素、总糖、多糖含量差别比较明显, 其中藤茶芽尖粉末的总黄酮和二氢杨梅素含量最高, 分别为 53.64%, 50.24%; 藤茶老叶中的总糖含量最高为 13.12%; 藤茶嫩叶中的多糖含量最高为 2.03%, 而茶梗中总黄酮、二氢杨梅素、总糖、多糖含量均为最低。结论 实验所建立的测定藤茶不同部位制茶后的功能性成分含量的分析方法可行, 结果可靠, 能明确藤茶不同部位制茶后的功能性成分含量, 为藤茶资源的利用提供相应的依据。

关键词: 藤茶; 总黄酮; 总糖; 多糖; 二氢杨梅素; 含量测定

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2017)11-1542-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.11.009

引用本文: 陈倩, 张雨林, 刘赫男, 等. 藤茶不同部位制茶后功能性成分的含量比较[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(11): 1542-1545.

Comparison of the Content of Functional Components in Different Parts of Vine Tea

CHEN Qian¹, ZHANG Yulin¹, LIU Henan², ZHAO Ai¹, LI Zichang¹, HE Guixia^{1*} (1.School of Pharmacy, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2.Second Affiliated Hospital, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To compare the content of flavonoids, dihydromyricetin, total sugar and polysaccharide in different parts of Vine Tea. **METHODS** Total flavonoids in Vine Tea were extracted with 70% ethanol solution. The content of total flavonoids in different parts of Vine Tea was determined by using ultraviolet spectrophotometry with dihydromyricetin as the reference substance at 292 nm. Using Hypersil BDS C₁₈ column, the mobile phase was methanol-water-phosphate (35:65:0.1) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The content of dihydromyricetin in different parts of Vine Tea was measured at the UV detection wavelength of 292 nm. Total sugar in Vine Tea were extracted with distilled water and polysaccharide were extracted with 80% ethyl alcohol sink. The contents of total sugar and polysaccharide in different parts of Vine Tea were determined by UV-spectrophotometer at 490 nm with glucose as the reference substance. **RESULTS** The contents of total flavonoids, total sugar, polysaccharides and dihydromyricetin were different in different parts of Vine Tea. The contents of total flavonoids and dihydromyricetin were the highest in 53.64% and 50.24% in the powder of shoot apices. The content of total sugar in the old leaves of Vine Tea was 13.12% and polysaccharide in the young leaves of Vine Tea was 2.03%. The content of total flavonoids, dihydromyricetin, total sugar and polysaccharide in tea stem was the lowest. **CONCLUSION** The method for the determination of the content of functional components in different parts of Vine Tea are reliable, and can be used to clarify the functional constituents in different parts of Vine Tea. It can provide the appropriate basis for the use of rattan tea resources.

KEY WORDS: Vine Tea; total flavonoids; total sugar; polysaccharide; dihydromyricetin; content determination

藤茶又名显齿蛇葡萄[*Ampelopsis grossedentata* (Hand.Mazz.) W. T. Wang]是葡萄科蛇葡萄属的一种野生藤本植物, 广泛分布于湖南、湖北、广西、

广东、云南、贵州、江西、福建等省份^[1-2]。藤茶曾在瑶族、土家族、云南拉祜族、侗族等少数民族及客家地区均被应用于茶饮和治疗方面^[3], 在

基金项目: 湖南省科技计划项目(2016NK3075); 湖南省教育厅科学研究项目(16K064); 湖南省教育厅十二五重点学科项目; 湖南中医药大学“十二五”校级重点学科项目

作者简介: 陈倩, 女, 硕士生 Tel: 15574803930 E-mail: 505277628@qq.com *通信作者: 何桂霞, 博士, 教授, 硕士 Tel: (0731)88458240 E-mail: 412422047@qq.com

《本草纲目》、《证类本草》等古著中记载^[4-5], 藤茶具有去热烦, 解毒, 调中益气, 止渴等作用。藤茶具有入口微苦, 回味甘甜的特殊口感, 受到很多人喜爱, 一些研究表明, 形成这种特殊口感, 可能跟藤茶中含有的黄酮类化合物和糖类成分有关^[6], 且诸多研究表明, 藤茶中含有的黄酮类、多糖类化合物具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、调血脂、降血糖、保肝等药理作用^[7-9]。本研究对藤茶的不同部位制茶后有关功效和口感的总黄酮、二氢杨梅素、总糖、多糖 4 种成分进行研究, 探讨藤茶不同部位制茶后有关这些功能性成分的含量, 对藤茶资源的利用提供相应的依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UV1800PC 紫外可见分光光度计(上海奥析科学仪器有限公司); AY220 型分析天平(日本岛津); Waters2489 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)。

1.2 样品

藤茶经湖南中医药大学中药鉴定教研室刘塔斯教授鉴定为葡萄科蛇葡萄属显齿蛇葡萄植物 *Ampelopsis grossedentata* (Hand.Mazz.) W. T. Wang。芽尖、嫩叶、老叶、带叶茶梗、茶梗(分别为选取显齿蛇葡萄植物的嫩芽、嫩叶、老叶、带老叶的茎以及不带叶子的茎, 按照传统的藤茶加工工艺制作而成)和芽尖粉末(为显齿蛇葡萄植物的嫩芽按照传统的藤茶加工工艺制作后掉落的白色粉末)样品均来源于湖南省张家界茅岩河有限公司藤茶基地, 采摘时间为 2016 年 8 月份。样品粉碎, 于 105 °C 烘干至恒重, 备用。

1.3 试剂

二氢杨梅素对照品(湖南中医药大学中药化学教研室自制, 含量>98%); 葡萄糖(中国食品药品检定所, 批号: 110833-201205, 分析纯); 硫酸、苯酚、乙醇、硝酸铝、亚硝酸钠和氢氧化钠均为国产分析纯; 蒸馏水(湖南中医药大学药剂教研室自制)。

2 方法

2.1 对照品溶液的配制

2.1.1 二氢杨梅素对照品溶液的配制 精密称取真空 60 °C 干燥至恒重的二氢杨梅素对照品适量, 用 95% 的乙醇溶解并定容至 10 mL 棕色量瓶, 制

成 1.02 mg·mL⁻¹ 二氢杨梅素对照品溶液, 于 2~4 °C 储存备用。

2.1.2 葡萄糖对照品溶液的配制 精密称取真空 60 °C 干燥至恒重的葡萄糖对照品适量, 用蒸馏水溶解并定容至 100 mL 棕色量瓶, 制成 0.113 mg·mL⁻¹ 葡萄糖对照品溶液, 于 2~4 °C 储存备用。

2.2 总黄酮的测定

2.2.1 标准曲线的制定 精密吸取二氢杨梅素对照品溶液 2 mL 并定容至 25 mL, 制成 0.081 6 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液, 再依次取此对照品溶液 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加乙醇定容至刻度, 摇匀, 室温避光放置, 2 h 以内于 292 nm 下测定吸收度, 浓度为横坐标(X), 吸光度为纵坐标(Y), 得线性回归方程为 $Y=54.289X+0.0772$ ($r=0.9995$), 线性范围为 3.264~16.32 μg·mL⁻¹。

2.2.2 供试品溶液制备 取各种藤茶样品约 1 g, 平行 3 份, 精密称定, 用 70%乙醇 20 mL 回流提取 3 次, 每次 1 h, 合并提取液, 浓缩, 70%的乙醇定容至 50 mL, 作为供试品溶液备用。

2.2.3 测定方法 精密量取供试品溶液 0.1 mL, 加 95%乙醇定容至 50 mL, 以相应的溶剂为空白溶液, 于 292 nm 处测定吸光度, 结果见表 1。

2.3 总糖的测定

2.3.1 标准曲线的制定 精密量取葡萄糖对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL, 分别置具塞试管中, 分别加水补至 2 mL, 各精密加入 5%苯酚溶液 1 mL, 迅速精密加入硫酸 5 mL, 摇匀, 放置 10 min, 置 40 °C 水浴中保温 15 min, 取出, 迅速冷却至室温, 以相应的试剂为空白, 在 490 nm 的波长处测定吸光度, 浓度为横坐标(X), 吸光度为纵坐标(Y), 得线性回归方程为 $Y=38.655X-0.0428$ ($r=0.9992$), 线性范围为 2.825~14.125 μg·mL⁻¹。

2.3.2 供试品溶液制备 取各种藤茶样品约 5 g, 平行 3 份, 精密称定, 加沸水 100 mL, 回流提取 3 次, 每次 1 h。合并提取液, 冷却至室温(有黄酮固体析出), 再过滤, 将滤液浓缩到小体积, 转移至 50 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀。

2.3.3 测定方法 精密量取上述供试品溶液上清液 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 用水定容, 再吸取 1 mL

置具塞试管中,加水补至 2 mL,按“2.3.1”项下方法,自“各精密加入 5%苯酚溶液 1 mL”起,依法测定吸光度,以葡萄糖计算藤茶中总糖含量,结果见表 1。

2.4 多糖的测定

2.4.1 供试品溶液制备 精密吸取“2.3.2”项下供试品溶液 30 mL,加入乙醇,使醇含量达到 80%,放置 24 h,离心得到多糖,转移至 50 mL 量瓶中,用水定容,摇匀。

2.4.2 测定方法 精密量取“2.4.1”项下提取液 0.3 mL,置具塞试管中,加水补至 2 mL,按“2.3.1”项下方法,自“各精密加入 5%苯酚溶液 1 mL”起,依法测定吸光度,以葡萄糖计算藤茶中多糖含量,结果见表 1。

2.5 二氢杨梅素的测定

2.5.1 色谱条件 色谱柱系 Hypersil BDS C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水-磷酸(35:65:0.1),流速为 1.0 mL·min⁻¹;进样量为 5 μL;柱温为 25 ℃。

2.5.2 标准曲线制定 精密吸取二氢杨梅素对照品溶液 2 mL 并定容至 10 mL,制成 0.204 mg·mL⁻¹对照品溶液,再依次取 0.4, 0.8, 1.0, 1.2, 2.0 mL 置 10 mL 量瓶中用 95%的乙醇定容,应用前经过 0.45 μm 微孔滤膜过滤,超声脱气。检测波长为 292 nm,浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),得到相关标准曲线为 $Y=13\ 215\ 931.4X+50\ 557(r=0.999\ 9)$,线性范围为 8.160~40.800 μg·mL⁻¹。

2.5.3 供试品溶液制备 取干燥藤茶约 1 g,精密称定,用 70%乙醇 15 mL,80 ℃回流提取 3 次,每次 1 h。合并提取液,浓缩,70%的乙醇定容至 50 mL,作为供试品溶液备用。

2.5.4 测定方法 精密量取供试品溶液 0.1 mL,加 95%乙醇定容至 50 mL,再吸取 5 μL 注入高效液相色谱仪中进行分析,获得样品的色谱图,通过其标准曲线回归方程计算二氢杨梅素的含量,结果见表 1。

2.6 方法学考察 分别取总黄酮、总糖、多糖、二氢杨梅素供试品溶液,按“2.2.3”“2.3.3”“2.4.2”“2.5.4”项下方法重复平行测量 6 次,进行精密度试验;分别取 6 份样品按照“2.2.2”“2.3.2”“2.4.1”“2.5.3”项下方法制备并测定,

进行重复性试验;取 1 份样品按照“2.2.2”“2.3.2”“2.4.1”“2.5.3”项下方法制备,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 测定,进行稳定性试验;取已知含量的 6 份样品,分别加入适量的二氢杨梅素对照品,按照“2.2.2”“2.3.2”“2.4.1”“2.5.3”项下方法制备,并测定计算回收率。结果表明本试验的精密度和稳定性良好,分析方法可靠,结果见表 2。

表 1 藤茶不同部位制茶后总黄酮、总糖、多糖、二氢杨梅素的含量

Tab. 1 Determination results of total flavonoids, total sugar, polysaccharide and dihydromyricetin in different parts of Vine Tea($n=3$) %

名称	总黄酮	总糖	多糖	二氢杨梅素
芽尖	32.34	4.17	1.37	28.62
芽尖粉末	53.64	3.58	1.03	50.24
老叶	23.41	13.12	1.58	11.41
嫩叶	36.58	9.81	2.03	32.89
带叶茶梗	7.09	9.67	0.70	6.66
茶梗	3.59	3.48	0.15	1.24

表 2 总黄酮、总糖、多糖、二氢杨梅素精密度、重复性和加样回收试验结果($n=5$)

Tab. 2 Results of precision, repeatability and recovery test($n=5$) %

功能性成分	精密度 RSD	重复性 RSD	稳定性 RSD	加样回收率 RSD
总黄酮	1.13	1.24	0.63	1.33
总糖	1.27	2.63	0.99	3.67
多糖	3.68	4.58	0.73	4.82
二氢杨梅素	0.82	1.02	0.67	2.03

3 讨论

表 1 显示,藤茶不同部位总黄酮、二氢杨梅素、总糖、多糖的含量差别比较明显。藤茶中以芽尖粉末所含的总黄酮和二氢杨梅素含量最高,其次是嫩叶、芽尖、老叶,而带叶茶梗、茶梗含量最低。藤茶在制茶过程中,二氢杨梅素等黄酮类化合物会大量析出^[10],在藤茶表面形成一层白霜,芽尖粉末为藤茶制茶过程中跌落的粉末,故其所含的总黄酮和二氢杨梅素含量较高;藤茶中所含总糖以老叶中的含量最高,其次是嫩叶、带叶茶梗,芽尖,芽尖粉末、茶梗含量最低。藤茶中所含多糖以嫩叶中的含量最高,其次是老叶、芽尖、芽尖粉末,带叶茶梗和茶梗的含量最低。

茶叶的口感是指茶汤中水溶性物质对人体感

官味觉的综合作用效应,主要包括一些黄酮类物质、生物碱、氨基酸、碳水化合物类等,它们的含量所表现出的滋味特征也不同,回甘是主要由苦味与甜味共同作用形成的特定滋味^[11]。根据实验结果可以推测出藤茶形成回甘滋味可能跟总黄酮和总糖的含量差有关,黄酮类化合物主要为苦味和涩味,而糖类化合物为甜味,二者含量差别越大,形成回甘程度越强。本实验初步对藤茶不同部位制茶后有关口感和功效的4种成分进行含量比较,建立测定总黄酮、总糖、多糖、二氢杨梅素的方法,为之后进一步研究藤茶口感与其成分之间的关系打下基础,为藤茶资源的合理利用提供了依据。

REFERENCES

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(二册)补编[M]. 北京:科学出版社, 1883: 349-356.
- [2] 广西医药研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁: 广西民族出版社, 1974: 203.
- [3] 中国科学院民族研究所云南民族调查组. 云南省拉祜族社会历史调查资料[M]. 1963.
- [4] 李时珍. 《本草纲目》(金陵本)新校注. 上册[M]. 中国中医药出版社, 2013.
- [5] 唐慎微. 证类本草[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2011.
- [6] XU C T. Preliminary on quality evaluation including appearance and chemical on Chinese Olive with fresh food [J]. Fujian Fruit(福建果树), 2009(4): 35-37.
- [7] 张学娟. 藤茶的形态学、生物学特性及主要化学成分研究[D]. 华中农业大学, 2008.
- [8] LEI H L, LU H B, CAI J Z, et al. Effects of selenium on activity of antioxidase and effective ingredient in *Ampelopsis grossedentata* [J]. J Huazhong Agri Univ(华中农业大学学报), 2010, 29(3): 321-325.
- [9] QIN L L. Research advance in chemical components and pharmacological actions of Rattan Tea [J]. Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志), 2008, 42(6): 94-96.
- [10] WANG M, QIN J P, FENG Y H, et al. Influences of different processing methods on contents of dihydromyricetin in Tengcha [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2015, 35(17): 1548-1551.
- [11] 许勇泉, 刘翔, 刘平, 等. 茶汤回甘滋味及其电子舌应用分析研究[C]//中国科协年会. 2013.

收稿日期: 2017-04-19
(本文责编: 蔡珊珊)