

青钱柳茶的化学成分、农残及挥发性成分分析

Analysis of chemical and volatile components of *Cyclocarya paliurus* tea

李婷婷 石叶蓉 吴彩娥 方升佐 潘海霞 朱振基

LI Ting-ting SHI Ye-rong WU Cai-e Fang sheng-zuo PAN Hai-xia ZHU Zhen-ji

(南京林业大学轻工科学与工程学院, 江苏 南京 210037)

(College of Light Industry Science and Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037, China)

摘要:为综合评价青钱柳茶的质量,对青钱柳茶的主要化学成分、农药残留和挥发性成分进行全面分析。利用顶空固相微萃取(HS—SPME)方法对青钱柳茶的挥发性成分提取后,采用气相色谱—质谱联用(GC—MS)技术对其成分进行分析。结果表明:青钱柳茶中的总黄酮、总多糖、总三萜含量分别为 0.73%, 2.53%, 0.88%。青钱柳茶的农药残留中有 23 项处于检出限以下未能检出。重金属铅、砷、汞的含量分别为 2.27, 0.38, 0.058 mg/kg, 均符合中国 GB 2673—2012 标准要求。在青钱柳茶中共检测出 30 种挥发性成分,主要以呈现青香、花香、果香和木香的香气成分居多,其中含量最高的两种物质分别为苯甲醇(13.50%)和 2-甲基-2-丁烯醛(13.10%)。

关键词:茶;青钱柳;挥发性成分;农药残留;化学成分

Abstract: To evaluate the quality of *Cyclocarya paliurus* (Batal) Ijinskaja tea, main chemical compounds, agricultural chemicals residues, and aroma compounds of *Cyclocarya paliurus* tea were analyzed. The aroma compounds of *Cyclocarya paliurus* tea were extracted by headspace solid-phase microextraction (HS—SPME), and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC—MS). The results showed that the contents of total flavonoids, polysaccharide, triterpene saponins in *Cyclocarya paliurus* tea were 0.73%, 2.53% and 0.88%, respectively. As for pesticide residues in *Cyclocarya paliurus* tea, 23 kinds of pesticide residues are below the limit of detection. The content of lead, arsenic, and mercury in *Cyclocarya paliurus* tea were 2.27, 0.38, 0.058 mg/kg respectively, which all meet the requirements of the State standards. Thirty kinds of aromatic compounds were identified from *Cyclocarya paliurus* tea, which contribute to a complex green grass, floral, fruity and woody scent. The highest content components was benzyl alcohol (13.50%), the second was 2-methyl-2-butene aldehyde (13.10%).

基金项目: 国家级大学生实践创新训练计划项目(编号: 201310298004Z);江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 李婷婷(1982—),女,南京林业大学讲师,博士。

E-mail: litingting82@163.com

收稿日期: 2015—01—31

Keywords: tea; *Cyclocarya paliurus*; volatile compounds; agricultural chemicals; chemical compound

青钱柳[*Cyclocarya paliurus* (Batal) Ijinskaja]系双子叶植物纲胡桃科青钱柳单种属植物,又名青钱李、甜茶树、摇钱树,是中国特有的珍稀药用植物资源。虽然青钱柳叶在产地一直被当做茶来饮用,但青钱柳并不属于普通食品范畴,直到 2013 年 10 月底中国才正式批准青钱柳叶为新食品原料,可以作为普通食品食用,因此有关青钱柳茶的基础性研究也需随之加强。

国内外研究表明,青钱柳的药用价值极高,青钱柳叶不仅具有良好的降血糖、降血压、降血脂的活性功能^[1-3],同时还在抑菌、抗氧化、抗癌等方面有一定的功效^[4,5],其中在防治糖尿病方面功效尤为突出。目前,青钱柳叶的主要食用方式是制成茶,其制法和饮法都与绿茶类似,江西修水、湖南绥宁和邵阳的一些生产厂家,从 20 世纪 80、90 年代开始就以青钱柳叶为原料制成了系列茶产品,并且其销售额呈现逐年增加的趋势。然而,随着青钱柳茶市场份额的不断扩大,缺乏统一的产品标准,无法客观评价青钱柳茶的质量,制约后续开发利用。为改变青钱柳茶市场混乱的局面,出台青钱柳茶的地方或行业标准势在必行,这就需以青钱柳茶的前期基础研究作为依据。目前对青钱柳的报道较多,但青钱柳茶的相关基础研究还比较薄弱,比如青钱柳茶的基本化学成分、食用卫生安全性以及特有挥发性成分等方面未有相关研究报道。

本研究为填补上述空白,以新鲜的青钱柳叶为原料,制成青钱柳茶,拟对青钱柳茶的基本化学成分、农药残留以及挥发性成分进行检测,为综合评价青钱柳茶的质量提供依据,同时为青钱柳资源科学合理的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

青钱柳叶:采摘于江苏镇江;

苯酚、硫酸、甲醇、冰醋酸、三氯化铝、氯仿、高氯酸、无水葡萄糖;分析纯,南京化学试剂有限公司;

芦丁和熊果酸;标准品,美国 Sigma 公司。

1.1.2 主要仪器设备

气相色谱仪:7890A 型,美国 Agilent 科技有限公司;

气相色谱—质谱联用仪:Trace 2000 型,美国 Thermo Finnigan 公司;

手动固相微萃取进样手柄和固相微萃取萃取头:65 μm PDMS/DVB(聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯),美国 Supelco 公司;

紫外分光光度仪:UV-2450 型,日本岛津公司。

1.2 方法

1.2.1 青钱柳茶的制备

原料采收→筛分→杀青→揉捻成型→干制→包装→青钱柳茶

青钱柳叶采摘于江苏镇江南京林业大学青钱柳基地,摘取 5 月中旬无虫伤、无霉烂的青钱柳叶,去除枝条及破碎、粉状的碎片杂物。将采摘的青钱柳叶放入杀青机中,进行杀青处理;在揉捻机中揉捻成形后,于炒干机中进行炒干处理,冷却后包装得青钱柳茶。

1.2.2 基本成分分析

(1) 含水量的测定:按 GB/T 8304—2013《茶 水分测定》执行;

(2) 水浸出物的测定:按 GB/T 8305—2013《茶 水浸出物测定》执行;

(3) 灰分的测定:按 GB/T 8306—2013《茶 总灰分测定》执行;

(4) 总黄酮的测定:采用三氯化铝显色法^[6];

(5) 总多糖的测定:采用苯酚硫酸法^[7],以葡萄糖为标准品;

(6) 总三萜的测定:采用香草醛—冰醋酸比色法^[8],以熊果酸为标准品。

1.2.3 安全性检测

(1) 农药残留检测:对茶叶中常易出现超标的 25 种农药残留,依据 GB 2673—2012《食品中农药最大残留限量》,对青钱柳茶的农药残留进行测定。为保证测定结果的权威性,该项目委托中国农业部茶叶质量监督检验测试中心测定。

(2) 重金属检测:对青钱柳茶中的重金属铅、砷、汞含量进行测定,铅的测定按 GB/T 5009.12—2010《食品中铅的测定》执行,砷的测定按 GB/T 5009.11—2003《食品中总砷及无机砷的测定》执行,汞的测定按 GB/T 5009.17—2003《食品中总汞及有机汞的测定》执行。

1.2.4 挥发性成分测定 采用顶空固相微萃取—气质联用法。

(1) 顶空固相微萃取:将固相微萃取头在气相色谱仪的进样口经 250 $^{\circ}\text{C}$ 老化 30 min,备用。取青钱柳茶 1.00 g,加入到顶空萃取瓶中,加入 10 mL 沸蒸馏水,四氟乙烯封口,60 $^{\circ}\text{C}$ 恒温 20 min,插入装有萃取头的固相微萃取手动进样器,吸附 30 min 后,取出萃取头后立即插入气相色谱进样口中,解析 4 min,进行测定。

(2) GC 条件:HP-5MS 石英毛细管柱(60 m $\times$ 0.32 mm $\times$

0.25 μm),载气为高纯氮气,纯度 $>99.999\%$,流速 1 mL/min,进样口温度 230 $^{\circ}\text{C}$,色谱柱起始温度 40 $^{\circ}\text{C}$,保持 3 min,以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 160 $^{\circ}\text{C}$,再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 240 $^{\circ}\text{C}$,保持 1 min,不分流进样。

(3) MS 条件:电子轰击(EI)离子源,离子源温度 200 $^{\circ}\text{C}$,电子能量 70 eV,接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$,电子倍增器电压 1 280 V,扫描质量范围为 35~500 amu。

1.3 数据分析

采用 SPSS 17.0 软件进行数据统计和分析,结果以 3 次平行试验的平均值 $\pm$ 标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 青钱柳茶的主要成分分析

据报道^[9],黄酮、多糖和三萜是使青钱柳具有降血糖、降血压等活性功能的重要作用物质。因此在评价青钱柳茶的品质时,该三类物质也是重要的考察指标,其含量可作为控制产品质量的依据。此外,结合普通茶叶的一般评判指标,还对青钱柳茶的水分、水浸出物和灰分进行了测定,结果见表 1。由表 1 可知,青钱柳茶水分含量在 7.93%,相比一般茶叶的含水量该结果较高,是由于其原料自身叶片的特性,在制茶过程中很容易出现碎茶现象,因此青钱柳茶需保持相对较高的含水量。

表 1 青钱柳茶的主要成分含量

Table 1 Contents of main chemical compounds in *Cyclocarya paliurus* tea

水分	浸出物	灰分	黄酮	多糖	三萜
7.93 $\pm$ 0.04	25.40 $\pm$ 0.10	9.71 $\pm$ 0.33	0.73 $\pm$ 0.26	2.53 $\pm$ 0.02	0.88 $\pm$ 0.03

青钱柳中黄酮成分有着重要的生理活性,因此在确定青钱柳茶的标准时,也要考虑其黄酮含量的多少。测定结果表明该青钱柳茶中总黄酮含量为 0.73%,有学者^[10]对不同产地青钱柳叶的黄酮含量进行了测定,其中江西修水以及福建永春两地的青钱柳含量分别为 0.65%和 0.64%,与本试验结果相近。此外,青钱柳叶中含有丰富的活性多糖,已有研究表明该活性多糖具有降低血糖^[1]、抗肿瘤^[5]等功能,本研究测得的青钱柳茶中总多糖含量为 2.53%,这也与文献^[7]报道的青钱柳叶中活性多糖含量相符。三萜作为青钱柳叶中重要的活性物质之一,其含量也是重点测定指标,本研究采用香草醛—冰醋酸显色法测定其含量为 0.88%。本试验测定的青钱柳茶中三萜的含量与文献^[8]报道的原料青钱柳叶中的含量差异不大。结果表明在制作过程中,没有对青钱柳茶中的活性成分造成较大影响。

2.2 青钱柳茶中农药残留、重金属检测

农药残留超标是目前茶叶市场中最常见的问题,因此在评价茶叶品质时,有关卫生安全性的农药残留指标也属于常规检测项目。青钱柳茶的原料取自于青钱柳树的叶子,青钱柳树目前有人工种植和天然林中野生两种形式,这两种形式均无需人为的喷洒农药,但由于周边生长环境可能存在背景值的影响,因此作为直接泡饮的茶叶形式,青钱柳茶中的农

药残留也需进行检测。由表 2 可知,在所检测的 25 项常见农药残留指标中,23 项指标均在检出限以下,该检出限为本试验所用设备和方法所能测定出的最低值。联苯菊酯和草甘膦两项检出,含量分别为 0.01,0.23 mg/kg,其值均远远低于 GB 2673—2012《食品中农药最大残留限量》标准要求。由此可知,相比其他茶叶,青钱柳茶的原料在生长过程中不易出现病虫害现象,一般无需人为喷洒农药,食用比较安全,试验测定结果也验证了这一情况。

茶叶的重金属指标也是衡量其卫生安全性的必检指标,

青钱柳茶的重金属检测结果见表 2,其三项重金属指标均符合 NY 659—2003《茶叶中铬、镉、汞、砷及氟化物限量》以及 GB 2762—2012《食品中污染物限量》中的要求。但本课题组在长期监测中发现,青钱柳叶中的铅含量呈现随生长季节的延长而积累的趋势,9 月份采摘的叶子中铅含量会达到 5.40 mg/kg,要远高于 5 月份采摘的叶子(2.27 mg/kg),因此铅含量应该作为青钱柳茶质量标准中最重要的控制指标之一,而且为了保证青钱柳茶叶的品质,在叶子采摘时要选择适宜的采摘月份。

表 2 青钱柳茶中农药残留、重金属检测结果[†]

Table 2 Contents of agricultural chemicals residues and heavy metal in *Cyclocarya paliurus* tea mg/kg

检测项目	检出限	含量	检测项目	检出限	含量
六六六	0.001	未检出	草铵膦	0.100	未检出
滴滴涕	0.002	未检出	吡虫啉	0.050	未检出
硫丹	0.010	未检出	苯醚甲环唑	0.010	未检出
溴氰菊酯	0.010	未检出	除虫脲	0.040	未检出
甲氰菊酯	0.010	未检出	哒螨灵	0.010	未检出
联苯菊酯	0.010	0.01±0.001	噻虫嗪	0.016	未检出
氟氰戊菊酯	0.010	未检出	杀螟丹	1.000	未检出
氯菊酯	0.010	未检出	丁醚脲	0.010	未检出
氯氟氰菊酯和高效氯氟氰菊酯	0.010	未检出	噻嗪酮	0.010	未检出
氯菊酯和高效氯菊酯	0.010	未检出	多菌灵	0.010	未检出
氟氯氰菊酯和高效氟氯氰菊酯	0.010	未检出	灭多威	0.010	未检出
乙酰甲胺磷	0.010	未检出	砷	0.010	0.380±0.006
杀螟硫磷	0.010	未检出	铅	0.005	2.270±0.110
草甘膦	0.100	0.23±0.01	汞	0.000 15	0.058±0.002

2.3 青钱柳茶的挥发性成分检测结果

采用顶空固相微萃取—气质联用法测定青钱柳茶挥发性成分,其总离子图见图 1。总离子图各峰经质谱扫描所得质谱图,与质谱数据库(NIST 和 Wiley 标准谱库)相匹配,确定出各挥发性成分的种类,并通过面积归一法计算出各成分的相对含量,鉴定结果见表 3。

由表 3 可知,在青钱柳茶的挥发性成分中共鉴定出 30 种化学物质,包含 6 种醇类、5 种酮类、4 种醛类、3 种烃类、4 种酯类、2 种酸类、3 种杂环类化合物,以及 3 种数据库中无匹配的未知物质。其中醇类化合物总含量为 21.63%,酮类为 12.90%,醛类为 23.89%,烃类为 2.78%,酯类为 14.54%,酸类为 7.32%,杂环类为 14.52%。除 3 种未知物外,含量最高的为醛类化合物。

醛类化合物中主要的呈香物质为 2-甲基-2-丁烯醛和反式 2-己烯醛,这两种物质主要呈现出绿叶青香和水果香气,其他两种醛类物质中乙醛具有生的油脂和青草气及苹果香味,反,反-2,4-庚二烯醛则是典型的茶叶挥发性成分,略带青臭,尤其在陈茶和发酵茶中含量较高。醇类化合物对青钱柳茶的风味贡献也比较大,以苯甲醇和顺-3-己烯-1-醇为主,顺-3-己烯-1-醇具有典型的青草气味,其他的醇类物质中α-甲基苯甲醇呈现出淡栀子花香味,2-己烯-1-醇具有强烈未成熟

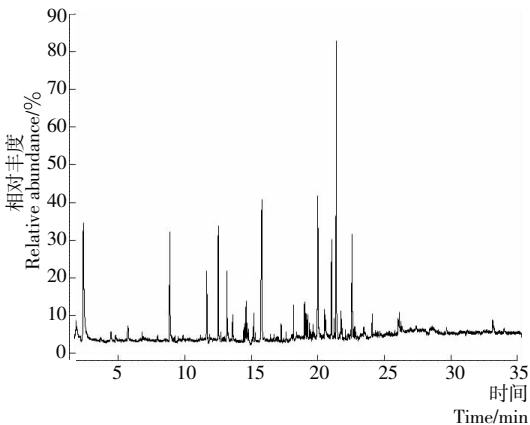


图 1 青钱柳茶挥发性成分的气质联用总离子流图
Figure 1 GC—MS total ion chromatogram of aroma compounds of *Cyclocarya paliurus* tea

果实气味,1-辛烯-3-醇具有青香、壤香和果香香气,虽然这些物质占挥发性成分含量不高,但均组成了青钱柳茶的典型呈香物质。酯类化合物中的水杨酸甲酯、甲酸己酯和乙酸苄酯分别具有冬青叶香味、甜的果香以及茉莉花香,其中水杨酸甲酯含量最高,为 8.08%。此外,酮类物质也是青钱柳茶气味的重要组成之一,其中的β紫罗兰酮呈现典型的紫罗兰花

香,香叶基丙酮表现出青香、果香、蜡香和木香,1-苯基乙酮则带有水果香味。其余化合物的香气特征不明显。综合分析青钱柳茶的挥发性成分及其香气表现,主要呈现出青香、花香、果香和木香,虽然不同物质嗅觉阈值不同,但在人工感官评价时青钱柳茶呈现出的主要是特殊的青涩气味,这与GC—MS分析所得的香气物质中呈现青草气的物质种类最多相吻合,这些物质构成了青钱柳茶的主体香气。此外,虽然大量组分的香气特征已知,但是仍有未知香气特征的组分和未知物,需要进一步深入研究。

3 结论

本试验从化学成分、农药残留以及挥发性成分等方面对青钱柳茶进行了逐一检测。通过分析试验结果可以得出,在

表 3 青钱柳茶挥发性成分的 GC—MS 测定结果

Table 3 GC—MS analytical results of aroma compounds of <i>Cyclocarya paliurus</i> tea			
峰号	保留时间 /min	化合物名称	峰面积 相对含量/%
1	1.780	3-甲基-1,3-戊二烯	0.55
2	1.794	4-甲基-1,3-戊二烯	0.74
3	2.348	2-甲基-2-丁烯醛	13.10
4	5.705	己醛	1.68
5	6.812	未知物	0.35
6	8.863	2-己烯醛	7.00
7	11.642	6-甲基-5-庚基-2-酮	4.42
8	12.499	甲酸己酯	5.24
9	13.159	顺-3-己烯-1-醇	3.12
10	13.591	反-2-己烯-1-醇	1.10
11	14.428	1-辛烯-3-醇	0.56
12	14.553	反,反-2,4-庚二烯醛	2.11
13	14.614	乙酸	1.49
14	15.176	3-乙烷基,1,4-己二烯	1.49
15	15.771	N-苯亚甲基-盐酸二甲胺	11.74
16	17.227	6-甲基-3,5-庚二烯-2-酮	1.45
17	18.170	1-苯基乙酮	1.55
18	18.996	3-环己烯-1-甲醇	1.60
19	19.094	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢萘	1.97
20	19.226	4a-甲基-1-甲基十氢化萘	0.81
21	19.374	乙酸苄酯	0.59
22	19.999	水杨酸甲酯	8.08
23	20.500	未知物	1.37
24	20.582	α-甲基苯甲醇	1.75
25	21.031	香叶基丙酮	4.60
26	21.224	2-甲基-3-羟基-2,4,4 三甲戊基丙酸酯	0.63
27	21.382	苯甲醇	13.50
28	21.725	未知物	0.97
29	22.072	β-紫罗兰酮	0.88
30	22.551	辛酸	5.83

青钱柳茶的实际生产以及相关标准的制订时,青钱柳总黄酮、总多糖、总三萜活性成分含量的高低,可作为评价青钱柳茶品质优劣的指标之一。在青钱柳茶食用卫生安全性评价方面,农药残留检测结果均远远低于中国 GB 2673—2012《食品中农药最大残留限量》的要求,因此该项目属于非关键控制指标,而重金属的测定结果表明,铅含量极易出现超标现象,属于主要控制指标之一。另外,对青钱柳茶挥发性成分分析的结果,可以用于比对鉴别掺假的青钱柳茶,为快速鉴别青钱柳茶的真伪、评定其质量提供参考。青钱柳茶的独特气味是由各类挥发性成分的含量,感觉阈值等多种因素共同决定的,因此,在青钱柳茶香气品质评定方面,还需要结合嗅觉感官分析,在特征香气物质鉴定、加工工艺对青钱柳茶香气成分的影响等方面进行深入的研究。

参考文献

1 Kurihara H, Fukami H, Kusumoto A, et al. Hypoglycaemic ac-tion of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja in normal and dia-betic mice [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2003, 67(4): 877~880.

2 Li Shan, Li Jian, Guan Xin-lan, et al. Hypoglycemic effects and constituents of the barks of *Cyclocarya paliurus* and their inhibi-ting activities to glucosidase and glycogen phosphorylase [J]. Fi-toterapia, 2011, 82(7): 1 081~1 085.

3 Kurihara H, Asami S, Shibata H, et al. Hypolipemic effect of *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinskaja in lipid-loaded mice [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2003, 26(3): 383~385.

4 Xie Jian-hua, Shen Ming-yue, Xie Ming-yong, et al. Ultrasonic-assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *Cy-clocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharides [J]. Carbo-hydrate Polymers, 2012, 89(1): 177~184.

5 Xie Jian-hua, Liu Xin, Shen Ming-yue, et al. Purification, phys-icochemical characterisation and anticancer activity of a polysac-charide from *Cyclocarya paliurus* leaves [J]. Food Chemistry, 2013, 136(3~4): 1 453~1 460.

6 李富民, 谭杰, 聂少平, 等. 青钱柳总黄酮测定方法研究[J]. 江-西食品工业, 2006(4): 34~37.

7 Xie Jian-hua, Xie Ming-yong, Shen Ming-yue, et al. Optimisati-on of microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Cy-clocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja using response surface methodology [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(8): 1 353~1 360.

8 徐睿庸, 洪艳平, 上官新晨, 等. 分光光度法测定青钱柳叶中总-三萜皂甙含量[J]. 江西农业大学学报, 2007, 29(3): 449~453.

9 Wang Qing-qing, Jiang Cui-hua, Fang Shen-zuo, et al. Antihy-perglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of ethanol and aqueous extracts of *Cyclocarya paliurus* leaves in type 2 dia-betic rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 150(3): 1 119~1 127.

10 朱贲峰, 贺肇东, 王政峰, 等. 不同产地青钱柳的总黄酮含量比-较[J]. 海峡药学, 2004, 16(3): 88~89.