

## Определение полифенольных антиоксидантов в образцах зеленого чая. Характеристические хроматографические профили

**Л.А. Карцова, \*В.А. Деев, Е.А. Бессонова, <sup>1</sup>О.Г. Белоус, <sup>1</sup>Н.Б. Платонова**

*Санкт-Петербургский государственный университет*

*Российская Федерация, 198504, г. Санкт-Петербург, Петродворец, Университетский пр., 26,  
<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур,  
Российская Федерация, 354002, г. Сочи, ул. Яна Фабрициуса, 2/28*

*\*Адрес для переписки: Деев Владислав Александрович, E-mail: hitcherv@mail.ru*

Поступила в редакцию 27 июля 2019 г., после доработки – 20 августа 2019 г.

Найдены условия селективного разделения полифенолов и кофеина методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим (**ОФ ВЭЖХ-УФ**) и масс-спектрометрическим детектированием (**ОФ ВЭЖХ/МС**). С помощью разработанной методики получены хроматографические профили 29 образцов зеленого чая, включая 11 селекционных, предоставленных Всероссийским научно-исследовательским институтом цветоводства и субтропических культур, г. Сочи. Проведена хемометрическая обработка характеристических профилей полифенолов методом главных компонент (**МГК**). Показано, что наблюдается разделение данных на графике счетов по первой и второй главным компонентам на два кластера (селекционные чаи и чаи компании Greenfield) относительно первой главной компоненты (**ГК-1**). Анализ графика нагрузок ГК-1 позволил выявить доминирующие аналиты (галловая кислота, галлокатехин, кофеин, эпигаллокатехин галлат и эпикатехин галлат), определяющие различие исследуемых образцов зеленого чая. Изучена МГК-модель по характеристическим профилям только селекционных чаев. Анализ графика счетов относительно первых двух главных компонент позволил обнаружить зависимость концентрации полифенолов и кофеина в селекционных образцах от сезона сбора чайного листа. Установлена возможная связь между ГК-2 и временем сбора урожая, однако это требует дальнейших исследований.

**Ключевые слова:** полифенолы, зеленый чай, ОФ-ВЭЖХ, характеристические профили, метод главных компонент.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2019, vol. 23, no. 3, pp. 377-385

DOI: 10.15826/analitika.2019.23.3.010

## Determination of polyphenol antioxidants in the samples of green tea. The characteristic chromatographic profiles

**L.A. Kartsova, \*V.A. Deev, E.A. Bessonova, <sup>1</sup>O.G. Belous, <sup>1</sup>N.B. Platonova**

*Saint-Petersburg State University, Institute of Chemistry, 26 Universitetskii prospect, St. Petersburg, Petergof,  
198504, Russian Federation*

*<sup>1</sup>All-Russian research Institute of floriculture and subtropical cultures, Russian Federation, 354002, Sochi, Jan  
Fabrizius street, 2/28*

*\*Corresponding author: Vladislav A. Deev. E-mail address: hitcherv@mail.ru*

Submitted 27 July 2019, received in revised form 20 August 2019

The conditions for the selective separation of polyphenols and caffeine with reverse-phase high-performance liquid chromatography with diodarray (**RP HPLC-DAD**) and mass-spectrometric detections (**RP HPLC/MS**) were found. Using the developed technique, chromatographic profiles of 29 samples of green tea (including 11 selection ones provided by the All-Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops, Sochi) were obtained. Using HPLC/MS, two unknown analytes (catechin gallate and galloocatechin gallate) of the tea samples were identified. Chemometric processing of the characteristic



Таблица 1

Условия градиентного режима элюирования полифенолов в ОФ ВЭЖХ

Table 1

The conditions of the gradient elution in RP-HPLC of polyphenols

Время, мин	0	10	20	21	23	23.5
% CH <sub>3</sub> CN в подвижной фазе, по объему	3	15	30	80	80	3

годности), среди которых 11 образцов пакетированного зеленого чая Greenfield Melissa были взяты из разных партий, и 11 – селекционных чаев, предоставленные Институтом цветоводства и субтропических культур г. Сочи. В качестве сырья для изготовления чая в лабораторных условиях использована трехлистная флешь растения *C. sinensis* спонтанных сортов Колхида (обычно контроль) и Сочи и индуцированных форм: № 3823 и 582 (радиамутантные формы) и № 855 и 2264 (колхимутантные формы), выращенные на опытном коллекционно-маточном участке института (пос. Уч-Дере, Лазаревский р-он, г. Сочи). Селекционные образцы относятся к крупнолистной морфологической форме китайской группы чая. Зеленый чай изготавливали в лаборатории физиологии и биохимии растений (ФБР) Института цветоводства и субтропических культур с соблюдением всех принятых технологических процессов: пропаривание (в течение 3 минут в аппарате Коха при температуре – 95-100 °С), скручивание, сушка (в сушильном шкафу в два приема: первый раз при температуре 90-95 °С до влажности 18 %, далее при температуре 80-90 °С до остаточной влажности 3-5 %).

**Пробоподготовка зеленого чая.** Пробоподготовка образцов чая включала: измельчение чайных листьев в ступке, отбор навески массой 200 мг, экстракцию полифенолов 20 мл горячей воды (80 °С) при обработке ультразвуком для интенсификации извлечения полифенольных соединений из листьев чая (20 минут) при температуре 70 °С. Экстракт переносили в мерную колбу и доводили деионизированной водой до объема 25 мл. Затем раствор фильтровали через шприцевую насадку Chromafil (Macherey-Nagel) и 20 мкл раствора анализировали методами высоко эффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектором (ВЭЖХ-УФ) и с тройным квадрупольным масс-селективным детектором (ВЭЖХ-МС).

**Стандартные растворы и модельная смесь.** Растворы стандартов полифенолов и кофеина готовились путем растворения точной навески (100 мг) в известном объеме дистиллированной (1 мл) воды. Все стандарты хранили в морозильной камере (при температуре -18 °С). Градуировочные растворы, а также раствор модельной смеси готовился путем разбавления исходных растворов стандартов.

**Условия хроматографического анализа.** ОФ ВЭЖХ-УФ, диодно-матричное детектирование (диапазон длин волн 190 – 800 нм); количественный анализ проводили на длине волны 280 нм. Подвижная фаза: ацетонитрил и 0.1 %-й водный

Таблица 2

Значения масс молекулярных ионов определяемых аналитов

Table 2

Values of molecular ion masses of analytes

Аналит	[M - H] <sup>-</sup> , m/z
Кофеин (Caf)	193 [M + H]
Катехин (C)	289
Эпикатехин (EC)	289
Галлокатехин (GC)	305
Эпигаллокатехин (EGC)	305
Эпигаллокатехин галлат (EGCG)	457
Эпикатехин галлат (ECG)	441
Галлокатехингаллат (GCG)	457
Галловая кислота (GA)	169

раствор муравьиной кислоты. Градиентный режим элюирования (табл. 1)

ОФ ВЭЖХ-МС: электрораспылительная ионизация полифенолов при отрицательной полярности. Напряжение на капилляре -3.5 кВ, скорость распыляющего газа (азота): 3 л/мин, скорость потока и температура осушающего газа (азота) 15 л/мин и 250 °С. Детектирование полифенолов по молекулярному иону [M - H]<sup>-</sup> (табл. 2)

**Хемометрическая обработка данных.** Хроматографические профили, полученные на длине волны 280 нм, выравнивали по временам удержания компонентов и обрабатывали в программном обеспечении «RStudio». Данные центрировали, но не масштабировали во избежание увеличения влияния «шумов» на построение модели методом главных компонент. Анализировали главные компоненты, объясняющие 98 % всей дисперсии, наблюдаемой в системе.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Чай – один из самых распространенных по потреблению после воды напитков в мире. Однако высокая стоимость высококачественных сортов чая и ограниченность ареалов произрастания чая создают предпосылки для появления различных способов фальсификации чайной продукции. Например, в России единственным местом размещения масштабных чайных плантаций является Черноморское побережье Краснодарского края – т.н. зона влажных субтропиков. Краснодарский чай пользуется популярностью как у местных жителей, так и у гостей курорта, но возможности его возделывания и производства ограничены, что порождает появление большого

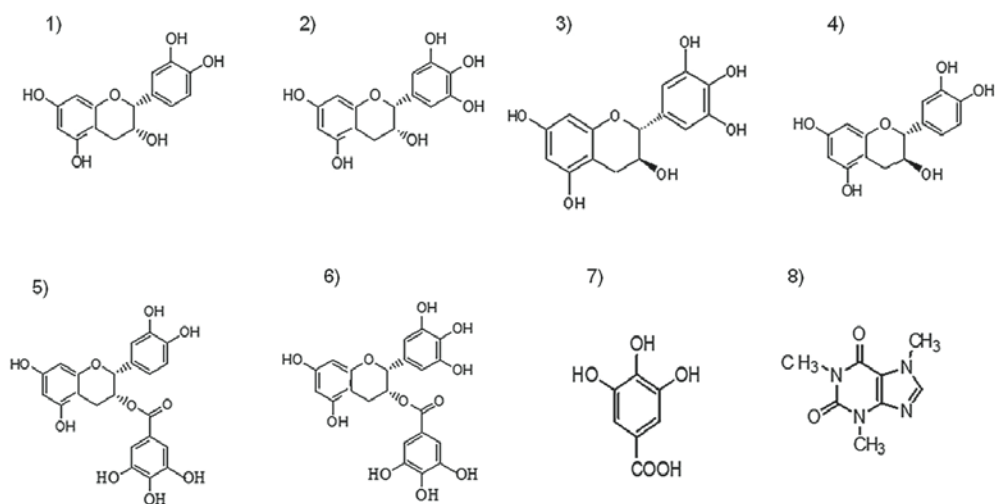


Рис. 1. Структурные формулы полифенолов и кофеина. 1 – эпикатехин (EC), 2 – эпигаллокатехин (EGC), 3 – галлокатехин (GC), 4 – катехин (C), 5 – эпикатехин галлат (EGCG), 6 – эпигаллокатехин галлат (EGCG), 7 – галловая кислота (GA), 8 – кофеин (Caf).

Fig. 1. Structural formulas of polyphenols and caffeine. 1 – epicatechin (EC), 2 – epigallocatechin (EGC), 3 – galocatechin (GC), 4 – catechin (C), 5 – epicatechin gallate (EGCG), 6 – epigallocatechin gallate (EGCG), 7 – gallic acid (GA), 8 – caffeine (Caf).

количества фальсификата. В связи с этим контроль качества чая является важной задачей. Основными компонентами, которые контролируют в зеленом чае, являются кофеин и полифенольные соединения – производные флавонола [3, 5, 7, 8, 11, 13]. В связи с этим определяемые аналиты в образцах зеленого чая – полифенолы и кофеин (рис. 1).

На модельных растворах катехинов и кофеина найдены условия их селективного хроматографического разделения (рис. 2). В качестве подвижной фазы выбраны 0.1 %-й водный раствор муравьиной кислоты и ацетонитрил. Элюирование проводили в градиентном режиме; спектрофотометрическое детектирование на длине волны 280 нм, поскольку

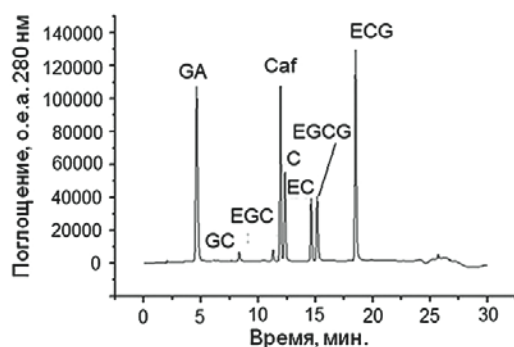


Рис. 2. Хроматограмма тестовой смеси катехинов и кофеина. Условия: ОФ ВЭЖХ, 280 нм; колонка: Luna C18 150 мм x 3.0 мм, 3.5 мкм. Элюент: ацетонитрил / 0.1 % раствор муравьиной кислоты, градиентный режим.

Fig. 2. Chromatogram of the standards catechins and caffeine using RP-HPLC. Conditions: DAD, 280 nm. Column: Luna C18 150 mm x 3.0 mm, 3.5 μm. Eluent: acetonitrile / 0.1 % formic acid solution, gradient mode.

определяемые аналиты имеют полосу поглощения с большим коэффициентом экстинкции.

В найденных условиях проанализированы 18 образцов зеленого чая компании Greenfield, 6 видов селекционных чаев (сорта Колхида и Сочи, формы № 3823, 582, 855 и 2264), собранных и изготовленных в июле и 5 (сорт Сочи, формы № 3823, 582, 855 и 2264) – в августе 2017 года. Всего получено 29 хроматографических профилей соответствующих образцов (рис. 3).

Различия в хроматографических профилях заметны даже визуально. Основными компонентами зеленого чая являются – Caf и EGCG, обладающий максимальной антиоксидантной активностью в ряду

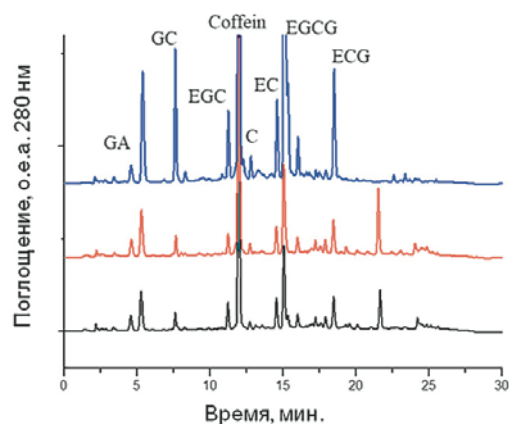


Рис. 3. Примеры хроматографических профилей экстрактов различных образцов зеленого чая. Синий – селекционный зеленый чай, красный – зеленый чай Flying Dragon Greenfield, черный – Greenfield Melissa.

Fig. 3. Chromatographic profiles of green teas. Blue – selection tea, red – green tea Flying Dragon Greenfield, black – Greenfield Melissa.

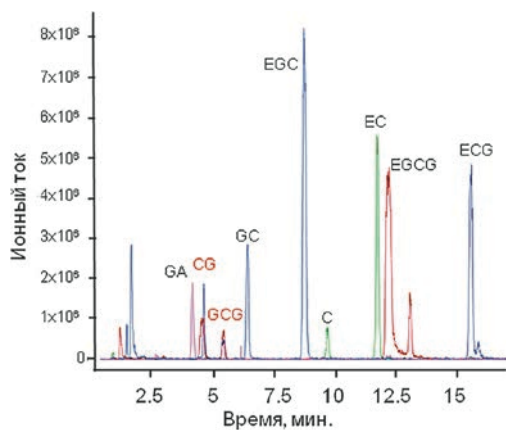


Рис. 4. Хроматограмма по выделенным ионам полифенолов водного экстракта зеленого чая (ВЭЖХ/МС с электро-спрей ионизацией при отрицательной полярности). Система ВЭЖХ/МС (Shimadzu LCMS-8030) с тройным квадрупольным масс-селективным детектором.

Fig. 4. Selected ion monitoring (SIM) chromatogram of polyphenols in water tea extracts (HPLC/MS with electrospray ionization at negative polarity mode). HPLC/MS system (Shimadzu LCMS-8030) with triple quadrupole mass selective detector.

полифенолов. В селекционных образцах содержание полифенолов оказалось существенно выше по сравнению с остальными, что свидетельствует о его высоком качестве. Пики, соответствующие катехин галлату (**CG**) и галлокатехин галлату (**GCG**), идентифицированы методом хромато-масс-спектрометрии (рис. 4).

Проведен количественный анализ полифенолов и кофеина в исследуемых образцах чая при длине волны максимума поглощения аналитов (280 нм) и рассчитано их содержание на 1 г сухого чая (табл. 3). Для чаев компании Greenfield каждая строка соответствует отдельной партии пакетированного чая. Из табл. 3 видно, что концентрации полифенолов и кофеина для различных сортов коммерческих чаев имеют близкие значения, что может быть обусловлено применением для их производства одинакового исходного сырья. При этом низкое содержание катехинов, вопреки ожиданиям для подобных аналитов в образцах зеленого чая, не всегда указывает на низкое качество чая или неправильные условия хранения. Относительно полифенольных соединений, эта особенность характерна для чая

**Таблица 3**

Концентрации полифенолов и кофеина в образцах зеленого чая (мг аналита на 1 г сухого чая,  $n = 3$ ,  $p = 0.95$ )

**Table 3**

Concentrations of polyphenols and caffeine in green tea samples (mg of analyte per 1 g of dry tea sample,  $n = 3$ ,  $p = 0.95$ )

	GA	GC	EGC	Caffein	EC	EGCG	ECG
cv. Kolchida июль	0.239 ± 0.013	2.821 ± 0.114	26.727 ± 0.602	19.351 ± 0.005	5.271 ± 0.001	75.820 ± 0.082	4.153 ± 0.008
cv. Sochi июль	0.173 ± 0.002	2.336 ± 0.082	29.302 ± 0.072	18.447 ± 0.033	6.378 ± 0.013	30.469 ± 0.079	2.187 ± 0.025
cv. Sochi август	0.126 ± 0.005	2.221 ± 0.094	31.995 ± 0.323	20.789 ± 0.021	6.412 ± 0.003	30.659 ± 0.031	2.622 ± 0.041
mf. № 3823 июль	0.211 ± 0.011	3.262 ± 0.132	39.016 ± 0.382	20.423 ± 0.03	6.594 ± 0.011	57.931 ± 0.092	3.629 ± 0.001
mf. № 3823 август	0.194 ± 0.007	2.184 ± 0.062	31.559 ± 0.274	17.058 ± 0.061	5.891 ± 0.005	49.733 ± 0.012	2.970 ± 0.025
mf. № 2264 июль	0.354 ± 0.004	2.290 ± 0.077	26.009 ± 0.043	21.889 ± 0.008	4.329 ± 0.043	65.355 ± 0.040	2.887 ± 0.121
mf. № 2264 август	0.355 ± 0.010	2.352 ± 0.062	21.389 ± 0.104	20.843 ± 0.042	4.088 ± 0.012	52.611 ± 0.014	3.087 ± 0.005
mf. № 582 июль	0.145 ± 0.011	2.591 ± 0.105	25.257 ± 0.034	20.200 ± 0.024	4.162 ± 0.004	37.729 ± 0.038	2.136 ± 0.025
mf. № 582 август	0.486 ± 0.007	3.336 ± 0.094	29.941 ± 0.301	20.800 ± 0.263	6.397 ± 0.005	36.069 ± 0.021	2.540 ± 0.011
mf. № 855 июль	0.175 ± 0.006	2.984 ± 0.101	29.393 ± 0.036	21.833 ± 0.047	7.577 ± 0.002	58.561 ± 0.008	4.322 ± 0.013
mf. № 855 август	0.490 ± 0.014	2.877 ± 0.127	26.649 ± 0.152	24.204 ± 0.018	4.459 ± 0.001	87.113 ± 0.027	4.822 ± 0.006
Melissa	0.708 ± 0.023	0.581 ± 0.034	5.350 ± 0.162	7.123 ± 0.014	1.393 ± 0.023	0.702 ± 0.039	0.239 ± 0.002
Melissa	0.736 ± 0.016	0.384 ± 0.012	4.546 ± 0.079	7.174 ± 0.032	1.193 ± 0.003	1.311 ± 0.088	0.284 ± 0.009
Melissa	0.212 ± 0.007	0.506 ± 0.049	5.549 ± 0.036	5.830 ± 0.007	1.262 ± 0.007	2.921 ± 0.010	0.389 ± 0.014
Melissa	0.208 ± 0.009	0.450 ± 0.013	4.204 ± 0.148	6.000 ± 0.032	1.020 ± 0.032	1.527 ± 0.012	0.260 ± 0.002
Melissa	0.220 ± 0.007	0.544 ± 0.033	5.563 ± 0.074	6.575 ± 0.012	1.276 ± 0.014	1.125 ± 0.021	0.257 ± 0.001
Melissa	0.222 ± 0.005	0.466 ± 0.042	4.815 ± 0.024	5.913 ± 0.006	1.237 ± 0.012	1.394 ± 0.057	0.264 ± 0.028
Classic Genmaicha	0.023 ± 0.005	0.223 ± 0.009	2.532 ± 0.097	2.116 ± 0.016	0.547 ± 0.009	0.120 ± 0.007	0.042 ± 0.001
Melissa	0.190 ± 0.008	0.426 ± 0.036	4.775 ± 0.082	6.861 ± 0.042	1.335 ± 0.001	2.861 ± 0.012	0.446 ± 0.003
Melissa	0.215 ± 0.012	1.177 ± 0.108	5.650 ± 0.105	7.090 ± 0.009	1.388 ± 0.003	3.918 ± 0.007	0.485 ± 0.002
Melissa	0.204 ± 0.005	0.436 ± 0.025	2.454 ± 0.053	6.216 ± 0.007	1.192 ± 0.003	1.840 ± 0.121	0.327 ± 0.001
Melissa	0.224 ± 0.013	0.484 ± 0.033	4.226 ± 0.027	6.431 ± 0.056	1.198 ± 0.006	3.591 ± 0.051	0.420 ± 0.001
Melissa	0.203 ± 0.012	0.457 ± 0.052	4.258 ± 0.149	6.594 ± 0.015	1.259 ± 0.012	3.454 ± 0.008	0.429 ± 0.012
Japanese Sencha	0.085 ± 0.010	0.946 ± 0.086	10.820 ± 0.313	6.755 ± 0.083	2.406 ± 0.005	6.115 ± 0.028	0.607 ± 0.004
Flying dragon	0.232 ± 0.012	0.623 ± 0.055	8.486 ± 0.100	7.388 ± 0.241	1.902 ± 0.035	6.400 ± 0.005	0.661 ± 0.003
Flying dragon	0.207 ± 0.011	0.657 ± 0.049	8.695 ± 0.093	7.317 ± 0.034	1.856 ± 0.002	6.683 ± 0.021	0.677 ± 0.001
Oolong	0.255 ± 0.009	0.778 ± 0.068	11.351 ± 0.206	7.394 ± 0.019	2.172 ± 0.001	9.370 ± 0.036	0.854 ± 0.002
Jasmine dream	0.389 ± 0.017	0.734 ± 0.073	4.102 ± 0.075	7.853 ± 0.132	2.619 ± 0.026	8.108 ± 0.011	1.873 ± 0.134
Jasmine dream	0.396 ± 0.014	0.794 ± 0.070	4.402 ± 0.023	8.242 ± 0.053	2.605 ± 0.008	6.969 ± 0.020	1.472 ± 0.038
Jasmine dream	0.380 ± 0.009	0.746 ± 0.082	4.858 ± 0.088	8.900 ± 0.043	2.601 ± 0.001	9.308 ± 0.295	2.013 ± 0.047

китайской генетической группы или произрастающего в более северных условиях; Этим характеристикам соответствуют проанализированные образцы.

Обнаружено сравнительно высокое содержание отдельных полифенолов в образцах Japanese Sencha и Oolong, однако, ввиду малого количества доступных для анализа образцов, сделать вывод о таком различии не представляется возможным.

Определены метрологические характеристики разработанной методики: линейный диапазон концентраций – 0.05-300 мкг/мл, воспроизводимость площадей пиков – 1.0-2.3 %.

В последние годы все более широкое распространение в аналитической химии находят многомерные методы обработки данных [16-22], что помогает выявить скрытые закономерности, отделить полезный сигнал от шума, а также представить данные в более удобной для интерпретации и визуализации форме. Одним из таких методов является метод главных компонент (МГК), заключающийся в построении ортогональных линий, направление которых совпадает с максимальным увеличением дисперсии в изучаемой системе. МГК позволяет перейти от большого количества переменных, в данном случае величины поглощения в каждый момент времени, к новым переменным, называемым главными компонентами (ГК). Координата образца в новой системе координат называется счетом по данной ГК.

Для построения МГК-модели хроматографические профили выравнивали по временам удерживания. Хемометрическую обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения «R-Studio», имеющего большое количество встроенных функций и пакетов программ, которые авторы статьи сочли наиболее приемлемыми для обработки полученных данных. При этом в литературе описано использование и других программ [17-21]. Данные центрировали и, во избежание сильного влияния случайных помех и шума на модель, мертвое время (от 0 до 3 минут) и время промывки колонки после анализа (23-30 минут) не учитывали. Это обусловлено отсутствием

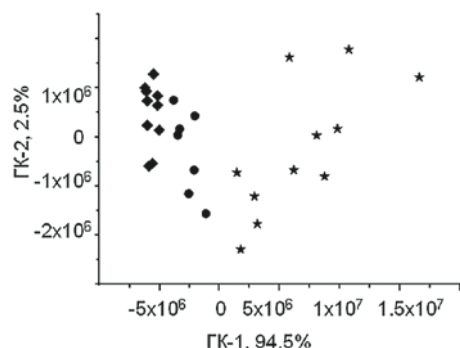


Рис. 5. График счетов ГК-1 / ГК-2 для образцов зеленого чая Greenfield. ◆ – Greenfield Melissa, ● – другие чаи компании Greenfield, ★ – селекционные чаи.

Fig. 5. Scores on PC 1 and PC 2 for the green tea Greenfield data. ◆ – Greenfield Melissa, ● – Other Greenfield companies green tea, ★ – selection tea.

полезной информации, связанной с изучаемыми объектами, в данных временных промежутках. По тем же соображениям не проводили процедуру нормировки интенсивности поглощения на величину ее дисперсии в каждый момент времени среди всех профилей. Исследовали главные компоненты, объясняющие более 97 % всей дисперсии.

На графике счетов ГК-1 – ГК-2 (рис. 5) наблюдается разделение полученных данных на три кластера относительно ГК-1: чай Greenfield Melissa, другие зелёные чаи компании Greenfield, и селекционные чаи (Сочи). Причем кластеры, соответствующие продукции компании Greenfield очень близки друг к другу, что говорит об их «схожести». Кроме того, заметно и более детальное деление кластера селекционных чаев на три подкластера. Однако каких-либо выводы на основании этого делать преждевременно: выборка селекционных чаев невелика.

Для внутренней проверки построенной модели производили обработку трех чаев, соответствующих трем различным группам зеленых чаев. Совпадение сорта чая и кластера говорит о корректной работе данной модели. Также в целях проверки осуществлялось моделирование по интегральной интенсивности хроматографических пиков. Результат оказался таким же.

Для выявления основных различий между кластерами исследовали графики нагрузок (рис. 6). Нагрузка – это тот вклад, который исходные переменные вносят в данную ГК. Самый большое влияние (абсолютная высота пика) на первую и вторую ГК имеют: GA, GC, Caf, EGCG и ECG. Следовательно, именно их можно использовать в качестве критерия оценки качества зеленого чая и определения его сорта.

Независимо построена МГК-модель селекционных чаев для выявления «скрытых» закономерностей на хроматограммах этих образцов. На графике счетов ГК-1/ГК-2 (рис. 7) заметно более низкое положение сорта чая, собранного в августе, относительно того же сорта, собранного в июле, что может говорить о возможной корреляции второй главной компоненты и времени сбора селекционных сортов чая. Также для

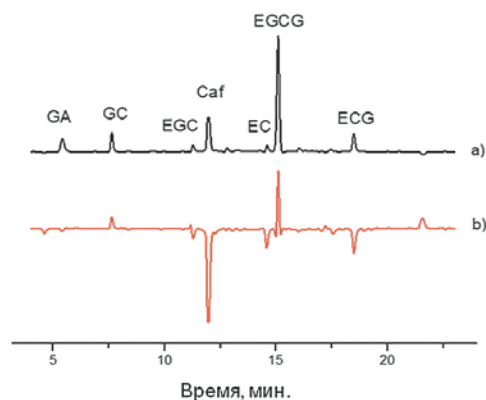


Рис. 6. График нагрузок: а) для первой главной компоненты; б) для второй главной компоненты.

Fig. 6. Loadings on: a) PC 1, b) PC 2.

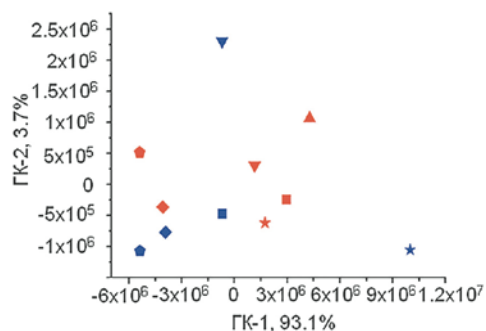


Рис. 7. График счетов ГК-1/ГК-2 для селекционных чаев. Форма обозначает вид селекционного чая: ● – «Сочи», ◆ – «582», ■ – «2264», ★ – «855», ▼ – «3823», ▲ – «Колхида». Цвет: синий – сбор в августе, красный – сбор в июле.

Fig. 7. Scores on PC 1 and PC 2 for the selection tea data. Symbols correspond to the different cultivars: ● – «Sochi», ◆ – «582», ■ – «2264», ★ – «855», ▼ – «3823», ▲ – «Kolchida». Color: blue – harvest in August, red – harvest in July.

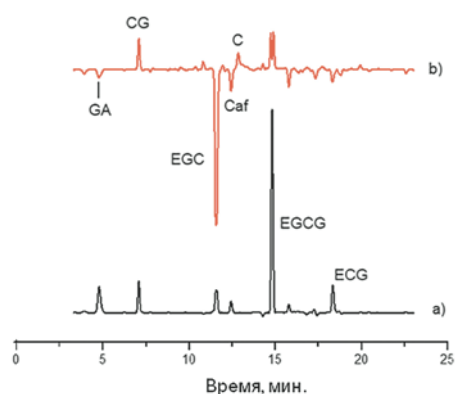


Рис. 8. График нагрузок: а) для первой главной компоненты; б) для второй главной компоненты.

Fig. 8. Loadings on: а) PC 1, б) PC 2.

некоторых сортов (2264, 855) наблюдается смещение относительно ГК-1, которое, однако, явно со временем сбора не связано. Для чая сорта «Сочи» и «582» наблюдается относительно малое влияние времени сбора на положение относительно ГК-1, следовательно, именно ее можно использовать в качестве контроля сорта данных чаев.

Анализируя графики нагрузок первой и второй ГК установлено, что на основное различие между селекционными чаями вносят: EGCG, EGC, ECG, CG и GA.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выбраны условия селективного разделения полифенолов и кофеина методом ОФ ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием и получены характеристические хроматографические профили 18 образцов зеленого чая компании Greenfield и 11 образцов селекционных чаев. Хемометрическая обработка профилей чая методом главных компонент позволила разделить образцы в два кластера: чай

компании Greenfield и селекционные чаи, а также выявить соединения, наиболее сильно влияющие на различия между данными образцами: CG, GC, EGC, EC, EGCG, ECG. Для ряда анализов построены градуировочные зависимости и определены концентрации полифенолов (мг в 1 г сухого чая).

Построена МГК-модель селекционных чаев. Обнаружено влияние времени сбора чайных листьев на химический состав конечной продукции. Выявлена возможная связь ГК-2 со временем сбора урожая, однако для ее подтверждения требуются дальнейшие исследования. Установлены основные компоненты в чайных листьях, концентрации которых зависят от сезона сбора, - это CG, ECG, EGCG, C и EGC.

## Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-13-00370. Выражаем благодарность Ресурсному Образовательному Центру по направлению химия Научный парк СПбГУ за предоставленное оборудование.

## Acknowledgements

The current study was supported by Russian Science Foundation grant № 19-13-00370. We express our gratitude to the Resource Educational Center in the direction of chemistry of St. Petersburg State University for the equipment provided.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Differentiation of modern and ancient varieties of common wheat by quantitative capillary electrophoretic profile of phenolic acids / R. Gotti [et al.] // *J. Chromatogr. A*. 2018. V.1532. P. 208-215.
2. A comparative study of UHPLC/Orbitrap MS metabolomics profiles and biological properties of *Asphodeline taurica* from Bulgaria and Turkey / I. Lazarova [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2019. V. 168. P. 174-180.
3. Dynamic changes in amino acids, catechins, caffeine and gallic acid in green tea during withering / Y. Ye [et al.] // *J. Food Compos. Anal.* 2018. V. 66. P. 98-108.
4. Graphene flakes enhance the detection of TiO<sub>2</sub>-enriched catechins by SALDI-MS after microwave-assisted enrichment / Y.-M. Juang [et al.] // *Talanta*. 2016. V. 153. P. 347-352.
5. Dalluge J.J., Nelson B.C. Determination of tea catechins // *J. Chromatogr. A*. 2000. V. 881. P. 411-424.
6. Quantitative Analysis of Major Constituents in Green Tea with Different Plucking Periods and Their Antioxidant Activity / L. Lan-Sook [et al.] // *J. Molecules*. 2014. V. 19. P. 9173-9186.
7. Irrigation deficit turns almond by-products into a valuable source of antimicrobial (poly)phenols / I. Prgomet [et al.] // *J. Industrial Crops & Products*. 2019. V. 132. P. 186-196.
8. Detection of catechin based on its electrochemical autoxidation / J. Wu [et al.] // *Talanta*. 2005. V. 65. P. 511-517.
9. Platonova N., Belous O., Ostadalova M. Comparative analysis of biochemical components of tea // *J. Subtrop. Orn. Gardening*. 2017. Vol. 61, № 1. P. 180-189.
10. The composition and content of phenolic compounds in tea, grown in humid subtropics of Russia / N. Platonova [et al.] // *Potravinarstvo Slovak J. Food Sci.* 2019. V. 13, № 1. P. 32-37.

11. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Чай. Химический состав чая и его влияние на здоровье человека. М.: Транслит, 2010. 160 с.
12. Simultaneous detection of green tea catechins and gallic acid in human serum after ingestion of green tea tablets using ion-pair high-performance liquid chromatography with electrochemical detection / K. Narumi [et al.] // *J. Chromatogr. B*. 2014. V. 945-946. P. 147-153.
13. Development of a UFLC-MS/MS method for the simultaneous determination of seven tea catechins in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study after administration of green tea extract / Y. Huo [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2016. V. 125. P. 229-235.
14. Separation of catechins and O-methylated (–)-epigallocatechin gallate using polyamide thin-layer chromatography / K. Wang [et al.] // *J. Chromatogr. B*. 2016. V. 1017-1018. P. 221-225.
15. Estimation of tea catechin levels using micellar electrokinetic chromatography: A quantitative approach / C.-M. Liu [et al.] // *J. Food Chem.* 2014. V. 150. P. 145-150.
16. Chromatographic separation techniques and data handling methods for herbal fingerprints: A review / C. Tistaert [et al.] // *J. Anal. Chim. Acta*. 2011. V. 690. P. 148-161.
17. A strategy for qualitative and quantitative profiling of glycyrrhiza extract and discovery of potential markers by fingerprint-activity relationship modeling / Y. Zhang [et al.] // *J. Sci. Rep.* 2019. V. 9. Article number: 1309. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38601-y>
18. Chemical profiles, antioxidant activity and acute toxicity of raw and sulfur fumigated *Smilacis Glabrae Rhizoma* / M. Yuan [et al.] // *J. Ethnopharmacol.* 2019. V. 234. P. 76-84.
19. Characterization of key odorants in Japanese green tea using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry / H.R. Tan [et al.] // *LWT- Food Sci. Technol.* 2019. V. 108. P. 221-232.
20. UHPLC analysis of major functional components in six types of Chinese teas: Constituent profile and origin consideration / L. Xu [et al.] // *LWT- Food Sci. Technol.* 2019. V. 102. P. 52-57.
21. Study on the effects of rapid aging technology on the aroma quality of white tea using GC–MS combined with chemometrics: In comparison with natural aged and fresh white tea / D. Qi [et al.] // *J. Food Chem.* 2018. V. 265. P. 189-199.
22. Local tangent space alignment and relevance vector machine as nonlinear methods for estimating sensory quality of tea using NIR spectroscopy / P. Liu [et al.] // *Vib. Spectrosc.* 2019. V. 103. P. Article number: 102923.
4. Juang Y.M., Chien H.J., Chen C.J., Lai C.C. Graphene flakes enhance the detection of TiO<sub>2</sub>-enriched catechins by SALDI-MS after microwave-assisted enrichment. *Talanta*, 2016, vol. 153, pp. 347-352. doi: 10.1016/j.talanta.2016.03.001.
5. Dalluge J.J., Nelson B.C. Determination of tea catechins. *Journal of Chromatography A*, 2000, vol. 881, pp. 411-424. doi: 10.1016/S0021-9673(00)00062-5.
6. Lee L.S., S.H. Kim, Y.B. Kim, Y.C. Kim. Quantitative Analysis of Major Constituents in Green Tea with Different Plucking Periods and Their Antioxidant. *Journal of Molecules*, 2014, vol. 19, pp. 9173-9186. doi: 10.3390/molecules19079173.
7. Prgommet I., Gonçalves B., Dominguez-Perles R., Santos R., Saavedra M.J., Aires A., Pascual-Seva N., Barros A. Irrigation deficit turns almond by-products into a valuable source of antimicrobial (poly)phenols. *Journal of Industrial Crops and Products*, 2019, vol. 132, pp. 186-196. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.02.024.
8. Wu J., Wang H., Fu L., Chen Z., Jiang J.H., Shen G., Yu R. Detection of catechin based on its electrochemical autoxidation. *Talanta*, 2005, vol. 65, pp. 511-517. doi: 10.1016/j.talanta.2004.07.045.
9. Platonova N., Belous O., Ostadalova M. Comparative analysis of biochemical components of tea. *Subtropical and Ornamental Gardening*, 2017, vol. 61, № 1, pp. 180-189.
10. Platonova N., Astanin A., Sedykh S., Samarina L., Belous O. The composition and content of phenolic compounds in tea, grown in humid subtropics of Russia. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Science*, 2019, vol. 13, № 1, pp. 32-37. doi: 10.5219/990.
11. Yashin Ya.I., Yashin A.Ya. Чай. *Химический состав чая и его влияние на здоровье человека* [Tea. Chemical composition of tea and its impact on human health]. Moscow, Translit Publ., 2010. 160 p. (in Russian).
12. Narumi K., Sonoda J.I., Shiotani K., Shigeru M., Shibata M., Kawachi A., Tomishige E., Sato K., Motoya T. Simultaneous detection of green tea catechins and gallic acid in human serum after ingestion of green tea tablets using ion-pair high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography B*, 2014, vol. 945-946, pp. 147-153, doi: 10.1016/j.jchromb.2013.11.007.
13. Huo Y., Zhang Q., Li Q., Geng B., Bi K. Development of a UFLC-MS/MS method for the simultaneous determination of seven tea catechins in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study after administration of green tea extract. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2016, vol. 125, pp. 229-235. doi: 10.1016/j.jpba.2016.03.048.
14. Wang Q., Chen Q., Lin Y., Yu S., Lin H., Huang J., Liu Z. Separation of catechins and O-methylated (–)-epigallocatechin gallate using polyamide thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography B*, 2016, vol. 1017-1018, pp. 221-225. doi: 10.1016/j.jchromb.2015.11.060.
15. Liu C.M., Chen C.Y., Lin Y.W. Estimation of tea catechin levels using micellar electrokinetic chromatography: A quantitative approach. *Journal of Food Chemistry*, 2014, vol. 150, pp. 145-150. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.10.140.
16. Tistaert C., Dejaegher B., Heyden Y.V. Chromatographic separation techniques and data handling methods for herbal fingerprints: A review. *Analytica Chimica Acta*, 2011, vol. 690, pp. 148-161. doi: 10.1016/j.aca.2011.02.023.
17. Zhang Y., Wang C., Yang F., Sun G. A strategy for qualitative and quantitative profiling of glycyrrhiza extract and discovery of potential markers by fingerprint-activity relationship modeling. *Journal of Scientific Reports*, 2019, vol. 9, Article number: 1309. doi: 10.1038/s41598-019-38601-y.
18. Yuan M., Yan Z., Liu Y., Chen D., Yang Z., He L., Zhang Z. Chemical profiles, antioxidant activity and acute toxicity of



- raw and sulfurfumigated *Smilacis Glabrae Rhizoma*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019, vol. 234, pp. 76-84, doi: 10.1016/j.jep.2019.01.026.
19. Tan H.R., Lau H., Liu S.Q., Tan L.P., Sakumoto S., Lassabliere B., Leong K.C., Sun J., Yu B. Characterization of key odorants in Japanese green tea using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*, 2019, vol. 108, pp. 221-232. doi: 10.1016/j.lwt.2019.03.054.
20. Xu L., Xia G., Luo Z., Liu S. UHPLC analysis of major functional components in six types of Chinese teas: Constituent profile and origin consideration. *LWT - Food Science and Technology*, 2019, vol. 102, pp. 52-57. doi: 10.1016/j.lwt.2018.12.008.
21. Qi D., Miao A., Cao J., Wang W., Chen W., Pang S., He X., Ma C. Study on the effects of rapid aging technology on the aroma quality of white tea using GC-MS combined with chemometrics: In comparison with natural aged and fresh white tea. *Journal of Food chemistry*, 2018, vol. 265, pp. 189-199. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.05.080.
22. Liu P., Zhu X., Hu X., Xiong A., Wen J., Li H., Ai S., Wu R. Local tangent space alignment and relevance vector machine as nonlinear methods for estimating sensory quality of tea using NIR spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 2019, vol. 103, Article number: 102923. doi: 10.1016/j.vibspec.2019.05.005.