

林清霞, 王丽丽, 杨军国, 等. 基于 DPPH 法的茶叶儿茶素类抗氧化谱效关系研究 [J]. 福建农业学报, 2020, 35 (2): 210-216.
LIN Q X, WANG L L, YANG J G, et al. Spectrum-effect Relationship between HPLC Fingerprints and DPPH-scavenging Activities of Tea Catechins [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 35 (2): 210-216.

基于 DPPH 法的茶叶儿茶素类抗氧化谱效关系研究

林清霞¹, 王丽丽¹, 杨军国², 宋振硕¹, 陈 林^{1*}

(1. 福建省农业科学院茶叶研究所, 福建 福州 350013; 2. 闽南师范大学生物科学与技术学院, 福建 漳州 363000)

摘 要:【目的】研究茶叶儿茶素 HPLC 指纹图谱与其自由基清除活性的关系。【方法】采用 70% 甲醇对绿茶、白茶、闽北乌龙、闽南乌龙、红茶 5 类共 25 批次样本进行提取; 以福林酚法测定总酚含量; 以 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 法研究自由基清除活性; 同时通过高效液相色谱法 (HPLC) 获取指纹图谱数据并对所获取的指纹图谱数据进行主成分分析; 采用偏最小二乘回归分析研究 HPLC 指纹图谱与 DPPH 清除活性的谱效关系, 结合皮尔逊 (Pearson) 相关性分析对偏最小二乘回归模型进行验证。【结果】获取 25 批次样本的 HPLC 指纹图谱, 确定了 8 个儿茶素类化合物, 成功构建了偏最小二乘回归方程, 其决定系数 $R^2=0.900\ 9$ 。结果表明表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)、表没食子儿茶素 (EGC)、表儿茶素没食子酸酯 (ECG) 与 DPPH 清除力相关性最强, 均呈极显著正相关; 没食子酸 (GA) 与 DPPH 清除力呈负相关。Pearson 相关性分析结果与偏最小二乘回归模型结果基本一致。【结论】本研究通过 HPLC 指纹图谱信息可预测抗氧化活性。

关键词: 儿茶素; 抗氧化; 高效液相色谱 (HPLC); 谱效关系

中图分类号: TS 272

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2020) 02-0210-07

Spectrum-effect Relationship between HPLC Fingerprints and DPPH-scavenging Activities of Tea Catechins

LIN Qing-xia¹, WANG Li-li¹, YANG Jun-guo², SONG Zhen-shuo¹, CHEN Lin^{1*}

(1. Tea Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China; 2. School of Biological Science and Biotechnology, Minnan Normal University, Zhangzhou, Fujian 363000, China)

Abstract: 【Objective】Correlation between the high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprints and the DPPH radical scavenging activities of catechins from varieties of teas was studied. 【Method】From 5 categories of teas including green tea, white tea, northern Fujian oolong, southern Fujian oolong, and black tea, 25 specimens were collected and extracted with 70% methanol. The extracts were used to determine polyphenols content by the Folin-Ciocalteu method, the free radical scavenging activity by [1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl, DPPH] assay, and the fingerprints by HPLC for a principal component analysis. A correlation model between the HPLC fingerprints and DPPH radical scavenging activity was established by a partial least squares regression analysis and validated by the Pearson analysis. 【Result】The HPLC fingerprints of the 25 specimens had 8 common compounds. The established regression model showed a coefficient of determination of $R^2=0.900\ 9$. The 3 compounds, epigallocatechin gallate (EGCG), epigallocatechin (EGC), and epicatechin gallate (ECG), exhibited the strongest and significant correlations with DPPH radical scavenging activity. On the other hand, gallic acid (GA) correlated inversely with the scavenging activity. The Pearson analysis showed a result consistent with what the partial least squares regression test did. 【Conclusion】It appeared that the antioxidant activity of catechins in the various teas could be satisfactorily predicted by HPLC fingerprints.

Key words: catechins; antioxidant activities; high-performance liquid chromatography (HPLC); spectrum-effect relationship

0 引言

【研究意义】谱效关系是中医药研究人员提

出的一种全新的思维方式, 即采用高效液相色谱 (High performance liquid chromatography, HPLC)、近红外光谱 (Near infrared spectrometry, NIR)、核

收稿日期: 2019-10-23 初稿; 2019-12-26 修改稿

作者简介: 林清霞 (1989-), 女, 硕士, 研究实习员, 研究方向: 茶叶精深加工 (E-mail: 735801309@qq.com)

* 通信作者: 陈林 (1975-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 茶叶加工、茶叶生物化学及综合利用研究 (E-mail: chenlin_xy@163.com)

基金项目: 福建省科技计划公益类专项 (2019R1029-3); 福建省农业科学院青年人才创新基金项目 (YC2018-7)

磁共振 (Nuclear magnetic resonance, NMR)、气质/液质联用 (Gas chromatography/Liquid chromatography-Mass spectrometry, GC/LC-MS) 等先进分析技术获得样品的化学指纹图谱, 也就是“谱”; 同时采用传统分析方法获得这些样品的活性数据, 也就是“效”; 将所得到的两组数据通过合适的化学计量学和统计学方法进行数据挖掘和处理, 从而建立指纹图谱与药效之间的关系模型^[1-5]。通过模型即可预测药效大小, 实现高通量分析, 极大提高分析速度, 缩短分析时间。【前人研究进展】谱效方法的提出为中药研究解决了许多难题, 中药成分复杂, 其药效是多种成分共同作用的结果, 通过谱效关系研究可以阐明具有协同作用或拮抗作用的有效成分组成, 从而揭示药效物质基础^[6]。徐晶晶等^[7]通过谱效关系研究, 筛选出薄荷药材中发挥抗氧化活性的化学成分群, 为合理确定中药药效物质基础起到了积极作用。中药药效基础为多成分共同作用, 而每个成分对药效贡献度不一致。Zhu 等^[8-9]通过谱效关系研究, 确定了各化合物的活性贡献度的大小顺序, 从而阐明了有效成分的组成、数目和对集体的作用程度。Xu 等^[10]指出, 谱效关系的研究能够反映中药内在质量的效果指纹, 可以通过化学指纹图谱来评估中药质量。【本研究切入点】茶叶与中药类似, 内含成分复杂, 其抗氧化活性亦是多成分共同作用的结果, 传统的茶叶抗氧化活性检测方法, 如 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 [1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl, DPPH]、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]、铁离子还原/抗氧化力测定法 (Ferric reducing/antioxidant power assay, FRAP) 等只能检测茶叶的总抗氧化能力, 无法确定各成分对抗氧化活性的贡献度, 只有先经过提取、分离、鉴定后再分别对各成分进行抗氧化活性测定^[11]。对单一组分的抗氧化成分进行提取、分离易导致其活性的改变, 无法准确评价其抗氧化能力, 且传统测定方法耗时费力^[12]。茶多酚是茶叶中最主要的抗氧化活性成分^[13-14], 其中儿茶素类约占茶多酚总量的 60%~80%^[15]。

【拟解决的关键问题】本研究采用 DPPH 法对茶叶的抗氧化活性与其儿茶素类 HPLC 指纹图谱进行谱效学分析, 探讨其图谱特征峰抗氧化活性大小并建立模型, 以期通过谱效模型预测茶叶儿茶素的抗氧化活性, 实现茶叶抗氧化活性的快速分析。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

供试材料：从市场购得不同类别茶叶样本共计

30 批次, 25 批次作为训练集用于建模, 具体构成为: 5 批次绿茶 (G1、G2、G3、G4、G5), 5 批次白茶 (W1、W2、W3、W4、W5), 5 批次闽北乌龙 (N1、N2、N3、N4、N5), 5 批次闽南乌龙 (S1、S2、S3、S4、S5), 5 批次红茶 (B1、B2、B3、B4、B5), 另外 5 批次茶样 (R1、R2、R3、R4、R5) 作为测试集对回归模型进行外部检验。从训练集中随机抽取 5 批次 (G1、B3、N4、W3、S5) 对回归模型进行内部验证。

主要试剂：没食子儿茶素 (Gallocatechin, GC)、表没食子儿茶素 (Epigallocatechin, EGC)、表没食子儿茶素没食子酸酯 (Epigallocatechin gallate, EGCG)、表儿茶素 (Epicatechin, EC)、没食子儿茶素没食子酸酯 (Gallocatechin gallate, GCG)、表儿茶素没食子酸酯 (Epicatechin gallate, ECG)、儿茶素没食子酸酯 (Catechin gallate, CG), 上述儿茶素标准品纯度均>98%, 美国 Sigma 公司; 没食子酸 (Gallic acid, GA, 分析纯), 生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 甲醇 (色谱纯), Sigma-Aldrich; 甲酸溶液 [含量 49%~51% (T), 色谱纯], Fluka; DPPH (纯度>97%), 京东化成工业株式会社; 无水乙醇和甲醇 (分析纯), 上海国药。

主要仪器设备：美国 Agilent 1260 型液相色谱系统, 包括四元泵 (G1311CVL)、标准自动进样器 (G1329B)、柱温箱 (G1316A) 和二极阵列检测器 (G1315DVL); CD-0502-U 实验室超纯水系统, 重庆艾科浦; HWS.28 电热恒温水浴锅, 上海恒科; VARIOSKAN LUX 酶标仪, 美国 Thermo SCIENTIFIC 公司; T6 新世纪紫外可见分光光度计, 北京普析通用。

1.2 试验方法

1.2.1 茶叶多酚总量的测定 茶多酚 (Tea polyphenols, TPs) 总量: 参照 GB/T8313-2018, 采用福林酚 (Folin-Ciocalteu) 法测定^[16]。

1.2.2 茶叶 DPPH 自由基清除率测定^[12] DPPH 溶液的配制: 精密称取 DPPH 适量, 加无水乙醇溶解配成 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH 溶液, 现配现用。茶样提取方法采用 GB/T 8313-2018, 用纯水稀释 100 倍后即为茶样测试液, 用于 DPPH 自由基清除试验, 限当日使用。

试验发现茶样测试液添加量为 $180 \mu\text{L}$ 时, 各茶样清除浓度均在其线性范围内, 即取茶样测试液 $180 \mu\text{L}$, 加纯水 1.82 mL , 再加 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH 溶液 2 mL , 测定比较 25 个茶样对 DPPH 自由基的清除活性。

1.2.3 茶叶 HPLC 指纹图谱采集^[17] 采用 TSKgel ODS-100Z 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$, 日本 Tosoh 公司), 以 0.1% 甲酸水溶液 (A 相, v/v) 和甲醇 (B 相) 为流动相, 洗脱方式为 83%A (0 min) —75%A

(5 min) —73%A (7 min) —58%A (16 min) —83%A (18 min), 柱温 40℃, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 280 nm。

1.3 数据处理

采用 ChemPattern 2017 对供试样品的 HPLC 化学指纹图谱进行分析; 采用 Origin 8.5 对总酚含量和 DPPH 清除活性数据进行处理; 采用 SPSS 19.0 软件对试验数据进行 Pearson 相关分析。

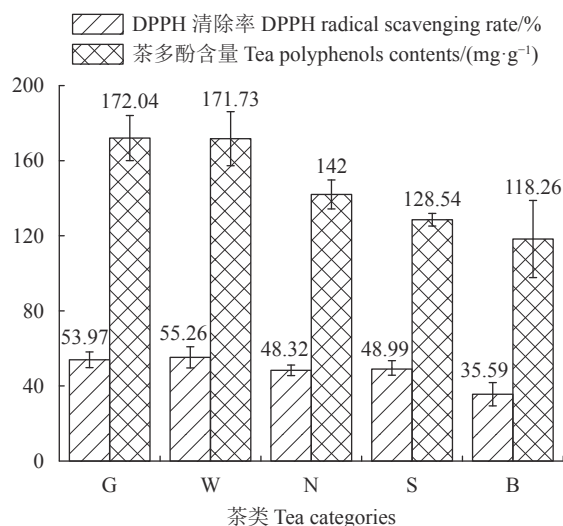
2 结果与分析

2.1 茶叶多酚总量与 DPPH 清除活性关系

为确保参与建模的 DPPH 数据有效, 本研究探讨了 TP 与 DPPH 清除活性关系, 见图 1。总体来看, TP 与 DPPH 清除活性呈正相关, Pearson 相关分析显示 TP 与 DPPH 清除率相关系数为 0.874, 这与文献报道 DPPH 清除能力与 TP 之间呈显著正相关的结果一致^[18]。绿茶、白茶的 TP 在各类茶中含量最高, 乌龙茶次之, 红茶最低, DPPH 清除能力大小变化趋势与 TP 一致, 与文献报道^[19-20]相同。这可能是由于绿茶属不发酵茶, 白茶发酵程度较低, TP 含量高, 均很大程度保留了鲜叶中的功效成分; 乌龙茶属半发酵茶, 红茶属全发酵茶, 发酵程度越高, TP 氧化程度越高^[21]。这一结果验证了 DPPH 清除活性数据的有效性。

2.2 儿茶素类 HPLC 指纹图谱与 DPPH 清除活性关系

2.2.1 HPLC 指纹图谱的主成分分析 HPLC 指纹图



注: G、W、N、S、B 分别代表绿茶、白茶、闽北乌龙、闽南乌龙、红茶。图 2 同。

Note: G, W, N, S, and B represent samples of green tea, white tea, northern Fujian oolong, southern Fujian oolong, and black tea, respectively. The same for Fig. 2.

图 1 茶样的总酚含量及其 DPPH 清除活性

Fig. 1 Polyphenol contents and DPPH radical scavenging activities of tea specimens

谱数据是参与建模的另一组数据, 采用 Chempattern 2017 软件对 25 个样品的 HPLC 指纹图谱数据进行主成分分析。从图 2 可以看出第 1 主成分 (PC1) 和第 2 主成分 (PC2) 分别解释了各色谱峰总变异的 66.28% 和 29.66%, 累计方差总变异贡献度达 95.94%。各茶类存在明显的类群区分, 绿茶、白茶、乌龙茶、红茶从左向右偏移, 这可能是因为各类茶制作工艺不同, 其活性化学成分和含量也不同^[22]。绿茶属不发酵茶、白茶属轻发酵茶, 二者相距较近; 乌龙茶属半发酵茶, 居中; 红茶属全发酵茶, 右移最多; 即发酵程度越重, 右移越多。本研究所选用的样品为绿茶、白茶、闽北乌龙、闽南乌龙、红茶 5 类茶样, 这 5 类茶样的 HPLC 指纹图谱数据的主成分分析亦成功划分为 5 个类群, 并按发酵程度有序偏移, 这在一定程度验证了 HPLC 指纹图谱数据的有效性。

2.2.2 基于偏最小二乘法的儿茶素类抗氧化谱效关系 采用 Chempattern 2017 对 HPLC 指纹图谱数据进行处理。

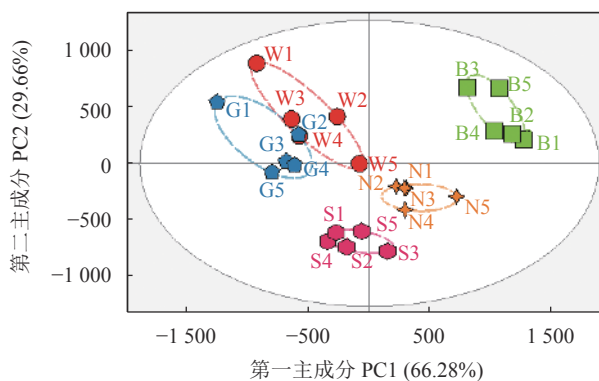
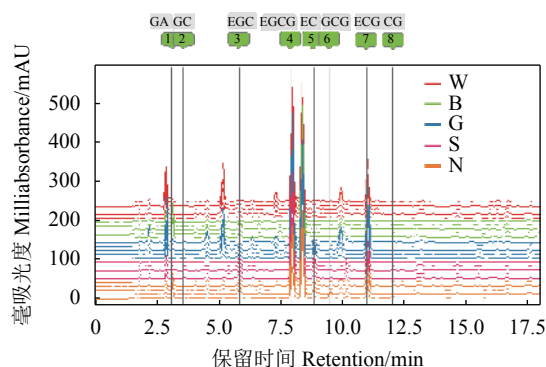


图 2 25 个茶样共有峰的主成分分析

Fig. 2 Scatter plot of PCA scores on common peaks of HPLC fingerprints from 25 samples



注: 图中各样品编号由上至下分别为 W1、W2、W3、W4、W5、B1、B2、B3、B4、B5、G1、G2、G3、G4、G5、S1、S2、S3、S4、S5、N1、N2、N3、N4、N5。

Note: The sample numbers from the top to the bottom are: W1, W2, W3, W4, W5, B1, B2, B3, B4, B5, G1, G2, G3, G4, G5, S1, S2, S3, S4, S5, N1, N2, N3, N4, N5, respectively.

图 3 25 个样品的 HPLC 指纹图谱

Fig. 3 HPLC fingerprints from 25 samples

图 3 为 25 个样品的 HPLC 指纹图谱叠加图。以 GA、GC、EGC、EGCG、EC、GCG、ECG、CG 作为研究对象，以其峰面积参与构建模型，各化合物峰面积数据见表 1。分析前对 8 个化合物的峰面积数据进行 Auto-scaling 预处理，处理后的量纲数据与 DPPH 清除率建立偏最小二乘回归。以峰面积为自变量（ X ），抗氧化活性数据为因变量（ Y ），建立偏最小二乘回归方程， $Y=48.4264-1.0387X_{GA}+0.8351X_{GC}+3.2989X_{EGC}+2.5719X_{EGCG}-1.0467X_{EC}+1.2953X_{GCG}+1.9433X_{ECG}+0.1999X_{CG}$ ，决定系数 $R^2=0.9009$ ，潜变量数保留 3 个（潜变量数的选择会影响模型 X 的解释率以及模型 Y 的预测率，当潜变量数保留 3 个，模型对 X 的解释率

表 1 25 个样品 HPLC 指纹图谱共有峰峰面积
Table 1 Average areas of common peaks on HPLC fingerprints from 25 samples

样品 Samples	25 个样品共有峰的峰面积 mAU*S Average peak area of every common peak mAU*S							
	GA	GC	EGC	EGCG	EC	GCG	ECG	CG
G1	40.13±1.40	18.22±2.25	65.87±3.57	2 227.66±13.35	49.54±1.15	32.02±1.95	995.88±9.90	8.77±5.70
G2	25.03±1.54	8.54±0.57	74.24±0.11	1637.85±3.57	121.59±0.92	12.23±1.27	768.66±5.20	10.52±1.24
G3	21.94±0.46	17.81±0.64	80.63±0.67	1716.19±1.63	147.59±1.70	18.96±1.38	769.49±3.11	8.59±1.70
G4	21.11±1.15	14.70±3.50	79.25±3.20	1653.04±13.25	150.69±3.20	10.51±0.20	765.03±15.75	10.56±2.65
G5	13.18±1.15	13.06±0.45	91.82±4.33	1894.60±6.30	169.08±1.10	20.26±0.40	952.57±3.51	14.85±5.45
W1	41.36±0.90	4.55±3.05	111.84±5.55	2038.52±68.95	34.36±3.85	20.29±0.55	875.54±16.45	5.64±2.30
W2	43.63±1.10	10.71±1.70	89.49±2.95	1382.64±43.60	57.11±3.35	12.58±0.50	569.71±12.55	6.08±1.20
W3	41.22±0.35	5.80±0.55	91.56±0.45	1836.79±4.55	50.96±8.95	14.19±0.65	642.15±2.20	7.49±0.10
W4	27.76±1.10	8.32±0.80	95.98±5.95	1814.42±94.35	58.06±4.00	9.37±2.35	545.45±22.70	6.22±0.55
W5	47.33±1.30	7.55±0.30	70.44±0.15	1326.74±9.80	36.01±2.40	7.29±1.15	412.72±1.70	6.11±1.00
N1	106.43±0.50	6.64±0.45	64.66±0.30	965.38±67.50	79.93±11.40	16.89±4.35	321.53±39.65	16.39±1.05
N2	94.12±0.65	9.42±1.30	78.55±1.40	1037.62±2.00	91.03±1.5	22.86±0.75	313.46±5.20	15.66±1.30
N3	102.94±0.35	8.44±5.22	79.80±2.60	983.68±22.30	87.01±1.82	20.98±0.60	298.41±9.28	10.53±1.83
N4	70.68±0.85	10.03±1.83	69.03±0.70	955.95±2.85	93.20±1.65	22.93±3.45	303.44±0.60	14.65±0.99
N5	155.18±0.45	15.98±1.55	65.33±0.75	578.92±9.85	19.10±0.10	154.82±0.25	212.88±4.50	40.47±2.20
S1	4.20±0.90	16.01±3.05	94.03±5.55	1523.93±68.95	86.89±3.85	8.96±0.55	368.55±16.45	10.68±2.30
S2	5.38±1.10	12.29±1.70	70.83±2.95	1361.34±43.60	109.65±2.35	9.23±1.95	402.72±12.4	11.26±0.45
S3	6.53±0.35	11.52±0.50	65.74±0.45	1066.28±4.50	125.36±8.95	5.74±0.65	319.91±2.20	8.80±0.10
S4	4.93±1.10	11.48±0.80	70.38±5.95	1423.13±94.35	83.51±4.00	13.15±2.35	373.80±22.50	8.54±0.55
S5	6.43±1.30	15.79±0.11	65.66±0.15	1298.71±9.80	74.57±2.40	8.64±1.15	335.69±1.72	7.32±1.12
B1	203.94±17.35	0.48±0.07	45.49±2.35	11.04±0.39	2.85±0.09	3.24±0.12	71.26±7.35	8.22±1.84
B2	210.96±0.050	ND	50.50±1.25	110.06±3.46	3.21±0.12	3.16±0.32	119.59±3.52	15.38±3.10
B3	228.05±2.65	ND	70.50±4.55	434.56±3.45	15.89±2.80	5.83±2.35	343.13±4.00	12.55±2.65
B4	180.05±0.65	ND	61.54±3.55	221.03±0.90	15.74±0.43	1.63±0.020	233.35±13.25	8.37±0.86
B5	219.56±4.70	ND	63.60±7.00	155.15±4.15	9.92±0.30	4.38±1.25	261.40±7.30	19.73±4.05

注：ND指未检出。
Note: ND means undetected.

以及 Y 的预测率最优), 模型 X 累积解释率 R^2X 达 87.85%, 模型 Y 预测率 Q^2Y 达 86.32%。方程回归系数的符号确定色谱峰与活性指标的相关变化方向(即正、负相关), 回归系数的大小确定色谱峰对活性指标的重要程度。由此可知, EGC、EGCG、ECG 与 DPPH 清除力相关性最强, 均呈正相关; GA 与 DPPH 清除力呈负相关。对回归方程进行假设检验(假设 H_0 =数据间不存在显著线性回归关系), 其结果见表 2。按显著性水平 $\alpha=0.05$, 数据间存在显著线性回归关系。内部检验以及外部验证结果见表 3, 内部检验的相对标准偏差均小于 5.62%, 外部验证的相对标准偏差均小于 10.97%。由此可以看出, 利用 HPLC 指纹图谱和抗氧化数据构建茶样的谱效关系具有一定的实用价值。

多种统计方法并用能够更加详尽解释谱效关系, 亦可达到相互佐证效果。本研究采用 SPSS 19.0 软件对 8 个化合物的峰面积与其对应的 DPPH 清除率数据进行双变量相关性分析, 显著性检验采用双侧检验(T), 相关系数选择 Pearson。8 个化合物与 DPPH 清除力的相关性如表 4 所示, 对清除自由基贡献度排名前三的化合物为 EGCG、EGC、ECG, 三者与其 DPPH 清除力均呈极显著正相关, GA 与 DPPH 清除力呈极显著负相关, 这与偏最小二乘回归方程结果基本一致。

表 4 茶样中共同峰与其 DPPH 清除活性之间的关系
Table 4 Correlation coefficients between DPPH radical scavenging activities and common peaks

化合物 Composition	GA	GC	EGC	EGCG	EC	GCG	ECG	CG
相关系数 Correlation	-0.723**	0.609**	0.808**	0.899**	0.427*	0.174	0.771**	-0.170

注: **表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关, *表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关。
Note: ** indicates a significant correlation at 0.01 level (double sides); * shows a significant correlation at 0.05 level (double sides).

3 讨论

合理的数据处理是谱效关系研究的核心。茶叶内含成分复杂, 各成分存在多重相关性, 偏最小二乘回归分析法集主成分分析、多元线性回归分析、典型相关分析于一体, 能够在自变量存在多重相关情况下进行回归建模, 适用于本研究^[23]。建立谱效关系所采用的各种化学计量学和统计学方法都存在一定的局限性, 这要求我们多种统计方法并用, 能够更加准确地解释谱效关系。偏最小二乘回归分析法是基于观测数据建立变量之间某种依赖关系, 寻找内在规律并用于预测控制的一种统计方法^[24], 能够反应各个色谱峰对应成分对活性指标的综合作用效果。Pearson 相关分析可研究连续变量之间的相关性, 反映 2 个或多个变量之间相关程度与方向, 可

表 2 偏最小二乘回归方程假设检验结果
Table 2 Hypothetic result of partial least squares regression equation

方差来源 Variance Source	自由度 df	方差 SS	均方差 MS	F	P
回归 Regress	8	1491	186	18	0
残差 Residual	16	164	10		
总变异数 Total variation	24	1 655			

表 3 偏最小二乘回归方程预测结果
Table 3 Predicted result from partial least squares regression equation

模型检验 Model test	样品 Sample	预测值 Predictive	实测值 Measured	相对标准偏差 Relative standard deviation/%
内部验证 Internal test	G1	57.45	60.87	5.62
	B3	40.90	39.28	4.12
	N4	48.48	50.58	4.15
	W3	56.25	58.19	3.33
	S5	49.92	48.25	3.46
外部验证 External test	R1	47.41	53.25	10.97
	R2	62.15	58.34	6.53
	R3	58.83	61.46	4.28
	R4	47.93	45.16	6.13
	R5	46.17	43.05	7.25

通过相关系数评价其相关性^[25], 能独立算出每一个色谱峰对活性的影响。因此, 本研究选用偏最小二乘回归分析对 25 个茶叶的指纹图谱以及茶叶的 DPPH 清除活性这两组数据进行解析, 并引入 Pearson 相关分析对偏最小二乘回归模型进行验证。

茶多酚是茶叶的主要活性成分, 是茶叶品质及生物学活性评价的主要指标, 茶叶抗氧化活性与茶多酚含量密切相关^[26]。儿茶素类化合物为茶多酚的主体成分, 约占茶多酚总量的 60%~80%, 因此茶叶的抗氧化活性可用儿茶素进行评价。本研究以 GA、GC、EGC、EGCG、EC、GCG、ECG、CG 为试验对象, 以其峰面积为自变量(X), 抗氧化活性数据为因变量(Y), 成功构建偏最小二乘回归方程为 $Y=48.4264-1.0387X_{GA}+0.8351X_{GC}+3.2989X_{EGC}+2.5719X_{EGCG}-1.0467X_{EC}+1.2953X_{GCG}+1.9433X_{ECG}+0.1999X_{CG}$,

决定系数 $R^2=0.9009$ 。偏最小二乘回归分析与 Pearson 分析结果一致, 说明 EGCG、EGC、ECG 与 DPPH 清除力相关性最强, 且呈正相关; GA 与 DPPH 清除力呈负相关, 对模型进行外部检验和内部检验, 所构建模型的平均相对标准偏差为 5.58%, 这说明利用儿茶素 HPLC 指纹图谱与其抗氧化数据构建的谱效关系模型具有一定的实用价值, 有望通过儿茶素 HPLC 指纹图谱信息预测其抗氧化活性, 初步实现儿茶素抗氧化活性的高通量分析。

GA 本身具有较强的抗氧化活性, 卢怡雯等^[27]以 GA 单体进行研究, 发现 GA 含量与 DPPH 清除活性呈正相关, 且存在良好的线性剂量效应关系。马慧等^[28]以茶叶提取物评估其抗氧化活性, 发现茶叶提取物中 GA 含量与 DPPH 清除活性的相关性为 -0.71, 与本研究结果一致, 这可能是因为茶叶的抗氧化活性是各成分共同作用的结果, 单一成分的含量及其活性指标不能真实反应茶叶的内在质量, 发酵茶总体上抗氧化活性低于不发酵茶或半发酵茶, 然而发酵茶中 GA 含量高于不发酵茶或半发酵茶。红茶抗氧化活性最弱, 总酚含量最少, 而 GA 含量最高; 白茶、绿茶抗氧化活性强, 总酚含量高, GA 含量低。综上所述, 茶叶中 GA 不是主要抗氧化活性成分, GA 含量的变化不能主导抗氧化活性的变化, 而总酚含量增减对抗氧化活性强弱有着决定性作用。

参考文献:

- [1] CHEN X Y, GOU S H, SHI Z Q, et al. Spectrum-effect relationship between HPLC fingerprints and bioactive components of *Radix Hedysari* on increasing the peak bone mass of rat [J]. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2019, 9 (4): 266–273.
- [2] SHEN C H, LIU C T, SONG X J, et al. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activities of *Rubia cordifolia* L. by spectrum-effect relationships [J]. *Journal of Chromatography B*, 2018, 1090: 73–80.
- [3] ZHAO Y, YOU X M, JIANG H, et al. Spectrum-effect relationships between high-performance liquid chromatography fingerprints and anti-inflammatory activities of *Leontopodium leontopodioides* (Willd.) Beauv [J]. *Journal of Chromatography B*, 2019, 1104: 11–17.
- [4] 李秋月. 延胡索生物碱谱-效关系及相互作用研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2014.
- [5] 吕邵娃, 董书羽, 郭玉岩, 等. 数据分析技术在中药谱效关系中的应用进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21 (15): 226–230.
LV S W, DONG S Y, GUO Y Y, et al. Advance in application of data analysis technique in spectrum-effect relationship of traditional Chinese medicines [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2015, 21 (15): 226–230. (in Chinese)
- [6] 曾令军, 林兵, 宋洪涛. 中药谱效关系研究进展及关键问题探讨 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40 (8): 1425–1432.
ZENG L J, LIN B, SONG H T. Progress in study of spectrum-effect relationship of traditional Chinese medicine and discussions [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2015, 40 (8): 1425–1432. (in Chinese)
- [7] 徐晶晶, 刘斌. 基于 DPPH、FRAP 法的薄荷药材抗氧化谱效关系研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38 (6): 405–410.
XU J J, LIU B. Spectrum-effect relation in antioxidant activity of *Menthae haplocalycis* Herba based on DPPH and FRAP assay [J]. *Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine*, 2015, 38 (6): 405–410. (in Chinese)
- [8] ZHU C S, ZHANG B, LIN Z J, et al. Relationship between high-performance liquid chromatography fingerprints and uric acid-lowering activities of *Cichorium intybus* L [J]. *Molecules*, 2015, 20 (5): 9455–9467.
- [9] 谭庆龙, 欧筱争, 谢丽霞, 等. 藏方甲嘎松汤挥发油体外抗氧化活性的谱效关系研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26 (3): 360–364.
TAN Q L, OU X Z, XIE L X, et al. Study on spectrum-effect relationship between fingerprints and antioxidant activities of essential oil from Tibetan medicine jiagasong decoction *in vitro* [J]. *Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology*, 2015, 26 (3): 360–364. (in Chinese)
- [10] XU G L, XIE M, YANG X Y, et al. Spectrum-effect relationships as a systematic approach to traditional Chinese medicine research: current status and future perspectives [J]. *Molecules*, 2014, 19 (11): 17897–17925.
- [11] 王媛媛, 马飞祥, 李凤英, 等. 在线色谱联用技术检测天然产物抗氧化活性的研究进展 [J]. 北方药学, 2016, 13 (9): 123–125.
WANG Y Y, MA F X, LI F Y, et al. Progress in the determination of antioxidant activity of natural products by on-line chromatography [J]. *Journal of North Pharmacy*, 2016, 13 (9): 123–125. (in Chinese)
- [12] 韦献雅, 殷丽琴, 钟成, 等. DPPH 法评价抗氧化活性研究进展 [J]. 食品科学, 2014, 35 (9): 317–322.
WEI X Y, YIN L Q, ZHONG C, et al. Advances in the DPPH radical scavenging assay for antioxidant activity evaluation [J]. *Food Science*, 2014, 35 (9): 317–322. (in Chinese)
- [13] ZHANG C, SUEN CLAIRE L C, YANG C, et al. Antioxidant capacity and major polyphenol composition of teas as affected by geographical location, plantation elevation and leaf grade [J]. *Food Chemistry*, 2018, 244: 109–119.
- [14] LV H P, ZHANG Y, SHI J, et al. Phytochemical profiles and antioxidant activities of Chinese dark teas obtained by different processing technologies [J]. *Food Research International*, 2017, 100: 486–493.
- [15] 林清霞, 项丽慧, 王丽丽, 等. 茶多酚高通量检测技术研究进展 [J]. 中国农学通报, 2019, 35 (3): 146–153.
LIN Q X, XIANG L H, WANG L L, et al. High throughput test of tea polyphenols: a review [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2019, 35 (3): 146–153. (in Chinese)
- [16] 周卫龙, 徐建峰, 黄伙水. 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法: GB/T 8313-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 1–7.

- [17] 王丽丽, 陈键, 宋振硕, 等. 茶叶中没食子酸、儿茶素类和生物碱的 HPLC 检测方法研究 [J]. *福建农业学报*, 2014, 29 (10): 987–994.
- WANG L L, CHEN J, SONG Z S, et al. Simultaneous HPLC determination of Gallic acid, catechins and alkaloids in tea [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2014, 29 (10): 987–994. (in Chinese)
- [18] 王丽丽, 杨军国, 宋振硕, 等. 鲜叶、绿茶和白茶化学组分比较及清除 DPPH 自由基研究 [J]. *茶叶学报*, 2015, 56 (4): 214–222.
- WANG L L, YANG J G, SONG Z S, et al. Compositional differences and DPPH radical scavenging of fresh tea leaves, green tea and white tea [J]. *Acta Tea Sinica*, 2015, 56 (4): 214–222. (in Chinese)
- [19] 陈金娥, 丰慧君, 张海容. 红茶、绿茶、乌龙茶活性成分抗氧化性研究 [J]. *食品科学*, 2009, 30 (3): 62–66.
- CHEN J N, FENG H J, ZHANG H R. Effects of active ingredients in black tea, green tea and oolong tea on antioxidant capability [J]. *Food Science*, 2009, 30 (3): 62–66. (in Chinese)
- [20] 林玲, 龚志华, 袁冬寅, 等. 相同加工原料下的 6 类茶体外抗氧化性能比较 [J]. *中国农学通报*, 2018, 34 (2): 107–112.
- LIN L, GONG Z H, YUAN D Y, et al. Comparison of antioxidative activity *in vitro* among six kinds of tea made from the same raw material [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2018, 34 (2): 107–112. (in Chinese)
- [21] ZHAO C N, TANG G Y, CAO S Y, et al. Phenolic profiles and antioxidant activities of 30 tea infusions from green, black, oolong, white, yellow and dark Teas [J]. *antioxidants*, 2019, 8: 215–228.
- [22] 杨伟丽, 肖文军, 邓克尼. 加工工艺对不同茶类主要生化成分的影响 [J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2001, 27 (5): 384–386.
- YANG W L, XIAO W J, DENG K N. Effects of processing technology of different teas on the main biochemistry components [J]. *Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences Edition)*, 2001, 27 (5): 384–386. (in Chinese)
- [23] 龙海林, 李强, 司银楚, 等. 虎杖的功效成分组研究 III: 对血浆黏度影响的谱效分析研究 [J]. *现代医药卫生*, 2012, 28 (20): 3080–3082.
- LONG H L, LI Q, SI Y C, et al. Spectrum-effect relationship study on influence of effective compositions research III of polygoni Cuspidation plasma viscosity [J]. *Journal of Modern Medicine & Health*, 2012, 28 (20): 3080–3082. (in Chinese)
- [24] 肖遂. 基于谱效关系的中药铁苋菜抑菌物质辨识方法研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- XIAO S. A method for research of antibacterial constituent recognition of traditional Chinese medicine(*Acalypha australis* linn.) by spectrum-effect relationship[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013. (in Chinese)
- [25] 邓书鸿, 聂磊. 中药谱效关系的分析方法及数据处理技术研究进展 [J]. *中药材*, 2010, 33 (11): 1819–1823.
- DENG S H, NIE L. Advances in analytical methods and data processing techniques for the relationship between the spectrum and effect of traditional Chinese medicine [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2010, 33 (11): 1819–1823. (in Chinese)
- [26] DOU Q P. Recent advances on tea polyphenols [J]. *Frontiers in Bioscience*, 2012, E4 (1): 111–131.
- [27] 卢怡雯, 李晓芬, 项朋志, 等. 没食子酸清除 DPPH 自由基的紫外-可见吸收光谱研究 [J]. *食品工业科技*, 2014, 35 (2): 124–126, 130.
- LU Y W, LI X F, XIANG P Z, et al. Study on UV-Vis absorption spectrometric investigation of the gallic acid against DPPH free radicals [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35 (2): 124–126, 130. (in Chinese)
- [28] 马慧, 茹鑫, 王津, 等. 4 种茶叶水提物及茶多酚的体外抗氧化性能研究 [J]. *食品研究与开发*, 2019, 40 (8): 65–70.
- MA H, RU X, WANG J, et al. Study on the antioxidant capacity of four tea water extracts and tea polyphenols *in vitro* [J]. *Food Research and Development*, 2019, 40 (8): 65–70. (in Chinese)

(责任编辑: 张梅)