

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202302010

李志荣, 邵起菊, 吴其妹, 等, 2024. 不同成熟度老鹰茶中酚类化合物含量及抗氧化活性研究 [J]. 广西植物, 44(6): 1170–1181.

LI ZR, SHAO QJ, WU QM, et al., 2024. Contents and antioxidant activities of phenolic compounds in Hawk tea with different maturity levels [J]. *Guihaia*, 44(6): 1170–1181.

不同成熟度老鹰茶中酚类化合物含量及抗氧化活性研究

李志荣^{1,2}, 邵起菊³, 吴其妹³, 李影³, 李文阳¹, 方灿灿¹, 肖世基³, 陈荣祥^{1*}

(1. 遵义医科大学 生命科学研究院, 贵州 遵义 563000; 2. 遵义医科大学第三附属医院, 贵州 遵义 563000; 3. 遵义医科大学 药学院, 贵州 遵义 563000)

摘要: 为了探究两种不同成熟度老鹰茶中酚类化合物含量及抗氧化活性的差异, 以对其进行辨识及质量评价, 该研究利用液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 法测定老鹰茶中 15 种酚类化合物, 采用 DPPH 自由基清除率、ABTS⁺ 自由基清除率、Fe³⁺ 还原能力评价两种茶叶抗氧化能力, 再通过数据统计分析探讨两种老鹰茶酚类化合物含量及抗氧化活性的差异, 并进一步探索老鹰茶中不同酚类化合物对于抗氧化的贡献。结果表明: (1) 嫩叶茶中儿茶素、对香豆酸、异槲皮苷、金丝桃苷、烟花苷、紫云英苷、山奈酚、槲皮素、阿福豆苷含量显著高于老叶茶, 其中儿茶素、异槲皮苷、紫云英苷平均含量比老叶茶分别高 1 039.43、169.12、257.35 mg · 100 g⁻¹。聚类分析 (HCA)、主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 均可将二者区分。(2) 方差分析 (ANOVA) 结果显示在抗氧化能力上, 二者在 DPPH 自由基清除率、ABTS⁺ 自由基清除率、Fe³⁺ 还原能力之间具有显著性差异, 嫩叶茶优于老叶茶。(3) 偏最小二乘回归分析 (PLSR) 法提示老鹰茶中的异槲皮苷、儿茶素、紫云英苷、绿原酸、金丝桃苷、对香豆酸、山奈酚是其发挥抗氧化效能的主要酚类化合物。该研究结果可为老鹰茶的质量控制及应用推广提供一定的参考。

关键词: 老鹰茶, 酚类化合物, LC-MS/MS, 抗氧化活性, 相关分析

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2024)06-1170-12

Contents and antioxidant activities of phenolic compounds in Hawk tea with different maturity levels

LI Zhirong^{1,2}, SHAO Qiju³, WU Qimei³, LI Ying³, LI Wenyang¹,
FANG Cancan¹, XIAO Shiji³, CHEN Rongxiang^{1*}

(1. Institute of Life Sciences, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China; 2. The Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China; 3. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China)

Abstract: To study the difference in the contents of phenolics and the antioxidant activities between two kinds of Hawk tea of different maturity levels, and to evaluate their qualities, the contents of 15 phenolic compounds were determined

收稿日期: 2023-06-04 接受日期: 2023-07-21

基金项目: 国家自然科学基金(31560102, 81760652); 遵义医科大学大学生创新创业项目(ZYDC2021152, ZYDC2022035)。

第一作者: 李志荣(1989—), 硕士, 主治医师, 研究方向为药用植物开发利用, (E-mail) 573469247@qq.com。

*通信作者: 陈荣祥, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为药用植物开发利用, (E-mail) chenrongxiang2014@163.com。

using LC-MS/MS method. Then, the antioxidant activities of two types of tea were evaluated using DPPH radical scavenging rate, ABTS⁺ radical scavenging rate, and Fe³⁺ ferric reducing antioxidant power (FRAP). And then, the contents of 15 phenolic compounds and the antioxidant activities between two kinds of Hawk tea of different maturity levels were analyzed by analysis of variance (ANOVA). Based on the contents of 15 phenolic compounds, hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least square-discriminant analysis (OPLS-DA) were used to classify two kinds of Hawk tea. Finally, the contribution of different phenolic compounds in Hawk tea to antioxidation was discussed by partial least square regression analysis (PLSR). The results were as follows: (1) The contents of catechin, *p*-coumaric acid, isoquercitrin, hyperoside, nicotiflorin, astragaln, kaempferol, quercetin, and afzelin in tender leaf tea were significantly higher than those in old leaf tea, among which the average contents of catechin, isoquercitrin, and astragaln were higher than those in old leaf tea by 1 039.43, 169.12 and 257.35 mg · 100 g⁻¹, respectively. The results of HCA, PCA, and OPLS-DA could distinguish two kinds of Hawk tea. (2) The ANOVA showed significant differences in DPPH radical scavenging rate, ABTS⁺ radical scavenging rate, and FRAP between two kinds of tea, with the tender leaf tea superior to the old leaf tea. (3) The PLSR suggested that isoquercitrin, catechin, astragaln, chlorogenic acid, hyperoside, *p*-coumaric acid, and kaempferol were the main phenolic compounds those contributed to the antioxidant activity of Hawk tea. This study can provide a reference for Hawk tea's quality control and application promotion.

Key words: Hawk tea, phenolic compounds, LC-MS/MS, antioxidant activity, correlation analysis

老鹰茶由樟科木姜子属植物毛豹皮樟 (*Litsea coreana* var. *lanuginosa*) 的叶片制作而成 (王雨鑫等, 2021), 其嫩叶两面有灰黄色长柔毛, 下面尤密, 而老叶下面柔毛稀疏, 两类叶片分别为嫩叶、老叶老鹰茶的制作原料 (艾安涛等, 2021)。老鹰茶具有消渴去暑、消食解胀、提神益智等多种功效 (Tan et al., 2016), 具有抗氧化、抗炎、抗紫外线、降血糖、降血脂、护肝、抗菌等药理作用 (Feng et al., 2019; Chen et al., 2019; 李宇航等, 2021; Tao et al., 2022; Xu et al., 2022)。其酚类化合物含量丰富, 是老鹰茶主要的活性成分 (刘斌, 2010; 秦昭等, 2019)。

研究表明, 成熟度对老鹰茶生物活性成分及抗氧化活性有显著影响, 嫩叶茶中总黄酮、碳水化合物等含量及抗氧化效能均高于老叶茶 (Yuan et al., 2014; Xiao et al., 2017)。因此, 嫩叶茶被视为一种高端的别样茶, 价格相对高昂。亦有报道老叶茶具有可观的生物活性 (Chen et al., 2019), 并且相较于嫩叶茶, 老叶茶来源更为丰富, 因其价格便宜, 亦颇受欢迎 (戴前莉等, 2022)。目前, 关于老鹰茶的质量控制多是基于液相色谱测定其中几种成分 (刘斌, 2010), 并不能全面反映老鹰茶的质量, 并且对于嫩叶、老叶中活性成分的差异及其抗氧化活性物质基础的研究较少。因此, 全面测定老鹰茶的化学成分并基于此进一步研究嫩叶茶与老叶茶之间活性成分差异的物质基础, 对于制定完善的老鹰茶质

量标准及应用推广具有重要意义。

液相色谱-串联质谱 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 技术具有高灵敏度、高选择性、简单、快速等优点, 广泛用于天然产物成分分析, 尤其适合复杂样品中多种成分的同时检测。因此, 本研究拟采用 LC-MS/MS 测定两种不同成熟度老鹰茶叶片中主要酚类化合物, 并以 DPPH 自由基清除率、ABTS⁺ 自由基清除率、Fe³⁺ 还原能力 (ferric reducing antioxidant power, FRAP) 评价其抗氧化能力, 通过主成分分析 (principal component analysis, PCA)、系统聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least square-discriminant analysis, OPLS-DA)、方差分析 (analysis of variance, ANOVA)、偏最小二乘回归分析 (partial least square regression analysis, PLSR) 拟探讨以下问题: (1) 两种老鹰茶之间酚类成分含量及体外抗氧化差异; (2) 老鹰茶中不同酚类化合物对抗氧化的贡献。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

对照品对香豆酸、柚皮素、山奈酚、儿茶素、表儿茶素、槲皮素、绿原酸、新绿原酸、阿福豆苷、紫云英苷、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、橙皮苷及芦

丁均购自格利普生物科技(成都)有限公司,质量分数 $\geq 98\%$ 。乙腈(LC-MS级)、甲酸(LC-MS级)、DPPH、ABTS、奎诺二甲基丙烯酸基(Trolox)、过硫酸钾、三氯化铁、醋酸钠、冰乙酸、2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ)、碳酸钠、福林酚均购于阿拉丁生化科技股份(上海)有限公司。实验用水由纯水超纯水系统制备。18批老鹰茶于2022年4—5月由农户手工采摘新鲜的嫩叶、老叶(其中嫩叶茶采摘单芽至一芽三叶,老叶为往下其余叶片),分别来自贵州、重庆、四川、安徽等地,样品情况见表1。

表1 老鹰茶样品信息表

Table 1 Information of Hawk tea samples

编号 Number	产地 Place of origin	类别 Sort	经纬度 Longitude and latitude
1	安徽宣城 Xuancheng, Anhui	嫩叶茶 Tender leaf tea	118°36' E, 30°48' N
2	安徽宣城 Xuancheng, Anhui	嫩叶茶 Tender leaf tea	118°36' E, 30°48' N
3	重庆巫溪 Wuxi, Chongqing	嫩叶茶 Tender leaf tea	109°36' E, 31°24' N
4	贵州遵义 Zunyi, Guizhou	嫩叶茶 Tender leaf tea	107°36' E, 28°54' N
5	贵州遵义 Zunyi, Guizhou	嫩叶茶 Tender leaf tea	107°36' E, 28°54' N
6	四川宜宾 Yibin, Sichuan	嫩叶茶 Tender leaf tea	104°36' E, 28°48' N
7	四川宜宾 Yibin, Sichuan	嫩叶茶 Tender leaf tea	104°36' E, 28°48' N
8	四川雅安 Ya'an, Sichuan	嫩叶茶 Tender leaf tea	103°18' E, 30°06' N
9	重庆巫山 Wushan, Chongqing	老叶茶 Old leaf tea	109°48' E, 31°06' N
10	重庆武隆 Wulong, Chongqing	老叶茶 Old leaf tea	107°36' E, 29°36' N
11	贵州遵义 Zunyi, Guizhou	老叶茶 Old leaf tea	107°36' E, 28°54' N
12	贵州遵义 Zunyi, Guizhou	老叶茶 Old leaf tea	107°36' E, 28°54' N
13	四川成都 Chengdu, Sichuan	老叶茶 Old leaf tea	104°18' E, 30°36' N
14	四川成都 Chengdu, Sichuan	老叶茶 Old leaf tea	104°36' E, 30°36' N
15	安徽宣城 Xuancheng, Anhui	老叶茶 Old leaf tea	118°36' E, 30°48' N
16	安徽宣城 Xuancheng, Anhui	老叶茶 Old leaf tea	118°36' E, 30°48' N
17	四川宜宾 Yibin, Sichuan	老叶茶 Old leaf tea	104°36' E, 28°48' N
18	四川宜宾 Yibin, Sichuan	老叶茶 Old leaf tea	104°36' E, 28°48' N

1.2 试剂制备

1.2.1 对照品溶液制备 精密称取新绿原酸、儿茶素、绿原酸、表儿茶素、对香豆酸、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、紫云英苷、橙皮苷、阿福豆苷、槲皮素、柚皮素、山奈酚对照品,加入甲醇制备成 $2\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 标准储备液置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中备用。使用前将标准储备液用80%甲醇(V/V)稀释至适合浓度的混合对照品溶液进样。

1.2.2 样品溶液制备 新鲜采摘的老鹰茶叶片于 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干、粉碎、过60目筛后,精密称取其粉末0.75 g,加入25 mL 80%甲醇(V/V),超声60 min,静置放冷,补重。离心($10\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min)后取上清液经 $0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤,用80%甲醇(V/V)稀释4倍后进样。

1.3 分析条件

1.3.1 色谱条件 I-Class-TQ-S超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪(美国Waters公司); Waters Acquity UPLC BEH C_{18} ($100\ \text{mm} \times 2.1\ \text{mm}$, $1.7\ \mu\text{m}$)色谱柱;流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水(B),梯度洗脱(0~15 min, 5%→30% A; 15~20 min, 30%→90% A);柱温 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$,流速 $0.4\ \text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样体积 $1\ \mu\text{L}$ 。

1.3.2 质谱条件 负离子模式电喷雾电离源(electrospray ionization, ESI⁻);扫描方式为全扫描和多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM);毛细管电压为3.5 kV;蒸发温度为 $450\text{ }^{\circ}\text{C}$;气流量为 $750\ \text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ 。15种成分的质谱优化参数见表2。

1.4 抗氧化活性测定

1.4.1 DPPH自由基清除率测定 参照文献(潘晓丽等,2021; Mary & Merina, 2021)略作修改,取1 mL的DPPH工作液(80%甲醇配制, $100\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)加入0.5 mL稀释后的样品溶液,混匀后,室温避光反应30 min,519 nm处测定吸光度值 A_1 ,以0.5 mL 80%甲醇(V/V)代替样品测吸光度值为 A_0 。计算公式如下。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100.$$

式中: A_0 是以0.5 mL 80%甲醇(V/V)代替样品测定的吸光度值; A_1 是各批样品反应后测定的吸光度值。

1.4.2 ABTS⁺自由基清除率测定 参照文献(Wolosiak et al., 2021; 肖坤敏等,2022)略作调整,将ABTS水溶液和过硫酸钾水溶液混合,室温

表 2 15 种目标化合物质谱参数

Table 2 MS parameters of 15 target compounds

化合物 Compound	保留时间 Retention time (min)	母离子 Parent ion (<i>m/z</i>)	子离子 Daughter ion (<i>m/z</i>)	碰撞 能量 Collision energy (V)	锥孔 电压 Cone voltage (V)
新绿原酸 Neochlorogenic acid	2.08	353.3	191.2	18	30
儿茶素 Catechin	2.98	289.1	245.1	14	10
绿原酸 Chlorogenic acid	3.25	353.1	191.0	15	12
表儿茶素 Epicatechin	4.64	289.2	203.4	18	30
对香豆酸 <i>p</i> -coumaric acid	6.14	163.0	119.0	15	12
芦丁 Rutin	7.21	609.3	300.1	35	30
金丝桃苷 Hyperoside	7.26	463.2	301.1	20	40
异槲皮苷 Isoquercitrin	7.51	463.2	300.1	30	45
烟花苷 Nicotiflorin	8.29	593.5	285.1	25	55
紫云英苷 Astragaln	8.74	447.3	284.0	20	20
橙皮苷 Hesperidin	9.74	609.3	301.3	30	10
阿福豆苷 Afzelin	10.28	431.1	284.8	14	10
槲皮素 Quercetin	12.72	301.1	229.3	15	10
柚皮素 Naringenin	13.63	271.2	151.1	15	20
山奈酚 Kaempferol	14.32	285.2	187.1	25	25

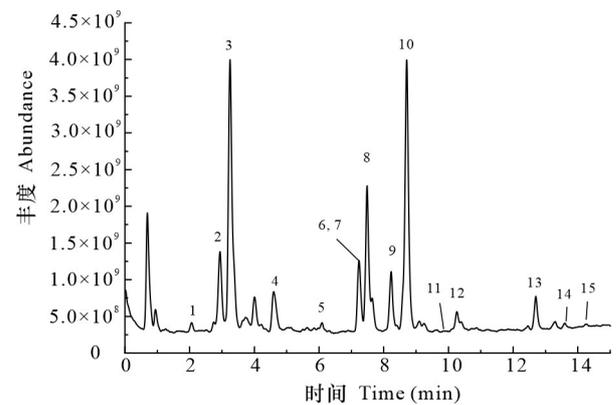
避光反应 12~16 h,以水稀释调整至在波长 734 nm 处吸光度为 0.8 ± 0.05 ,制备得到 ABTS 工作液;1 mL 的 ABTS 工作液加入 0.5 mL 稀释后的样品溶液,混匀后,室温避光反应 30 min,在 734 nm 处测定吸光度值 A_1 ,以 80% 甲醇 (V/V) 代替样品测吸光度为 A_0 。ABTS⁺ 自由基清除率计算同“1.4.1”。

1.4.3 Fe³⁺ 还原能力 (FRAP) 测定 参考陈培等 (2020) 的方法测定老鹰茶 FRAP 值。将 100 μL 待测试样品与 300 μL FRAP 工作液 (300 mmol · L⁻¹、pH 3.6 醋酸钠缓冲液,10 mmol · L⁻¹ TPTZ 溶液和 20 mmol · L⁻¹ 氯化铁溶液以 10 : 1 : 1 的体积比混合) 充分混合;在 37 °C 孵育 10 min 后在 593 nm 处测定吸光度值。以不同浓度梯度的 Trolox 标准溶液绘制标准曲线: $y = 0.014 1x + 0.151$, $r = 0.996$ 。以 Trolox 当量评价老鹰茶的 FRAP (mg TE · g⁻¹ DW)。

2 结果与分析

2.1 老鹰茶中主要酚类化合物鉴定

利用“1.3”的色谱条件,在负离子模式下进行全扫描得到老鹰茶总离子流图(扫描范围 *m/z* 为 100~800 amu),如图 1 所示。通过与 MRM 模式下离子碎片信息与标准品对比鉴定了 15 种化合物,分别为新绿原酸、儿茶素、绿原酸、表儿茶素、对香豆酸、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、紫云英苷、橙皮苷、阿福豆苷、槲皮素、柚皮素、山奈酚。这些化合物在负离子模式下色谱峰面积也相对较大,是老鹰茶中含量较高的酚类化合物。



1. 新绿原酸; 2. 儿茶素; 3. 绿原酸; 4. 表儿茶素; 5. 对香豆酸; 6. 芦丁; 7. 金丝桃苷; 8. 异槲皮苷; 9. 烟花苷; 10. 紫云英苷; 11. 橙皮苷; 12. 阿福豆苷; 13. 槲皮素; 14. 柚皮素; 15. 山奈酚。下同。

1. Neochlorogenic acid; 2. Catechin; 3. Chlorogenic acid; 4. Epicatechin; 5. *p*-coumaric acid; 6. Rutin; 7. Hyperoside; 8. Isoquercitrin; 9. Nicotiflorin; 10. Astragaln; 11. Hesperidin; 12. Afzelin; 13. Quercetin; 14. Naringenin; 15. Kaempferol. The same below.

图 1 全扫描模式下总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of the full scan mode

2.2 方法学考察

线性关系考察通过“1.2.1”标准储备液混合配制不同浓度标准品混合溶液,以“1.3”的方法进样得到的峰面积 (y) 和相应各物质的质量浓度 (x) 进行线性回归,得出各化合物的线性关系方程、相关系数、线性范围。将混合对照品溶液连续进样 6 次,计算色谱峰面积的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 评价方法的精密度。将混

合对照品加入已知浓度的老鹰茶样品中,按“1.2.2”项下制备样品的方法进行处理,再按“1.3”中的仪器条件分析,平行6次。计算各成分的平均回收率和RSD以评价方法的准确性。结果见表3,在各自线性范围内,15种化合物线性关系良好,

r 值均大于0.99,检出限($S/N=3$)为 $0.10\sim 1.30\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。精密度的 $0.70\%\sim 2.38\%$,表明该方法的仪器精密度良好。15种成分的平均加样回收率介于 $93.2\%\sim 109.7\%$ 之间,RSD均小于 6.6% ,结果表明该方法的准确性较好。

表3 方法学考察结果
Table 3 Results of method validation

化合物 Compound	回归方程 Regression equation	线性范围 Linear range ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	相关系数 Correlation coefficient (r)	检出限 Limit of detection ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	精密度 Precision (%)	回收率 平均值 Average recovery rate (%)	相对标准 偏差 RSD (%)
新绿原酸 Neochlorogenic acid	$y=104\ 399x+516\ 4$	0.005~5	0.998 8	1.00	1.01	109.7	5.2
儿茶素 Catechin	$y=35\ 235.7x+114\ 361.8$	0.15~150	0.996 4	0.33	1.75	100.4	4.7
绿原酸 Chlorogenic acid	$y=58\ 471x+33\ 456$	0.2~40	0.997 7	1.10	0.92	101.5	4.7
表儿茶素 Epicatechin	$y=8\ 934.8x+10$	0.2~40	0.999 4	0.27	0.72	94.7	4.2
对香豆酸 <i>p</i> -coumaric acid	$y=386\ 927x+5\ 276$	0.002~2	0.999 9	1.30	1.48	103.5	5.5
芦丁 Rutin	$y=116\ 398.2x+7\ 320.5$	0.1~20	0.998 2	0.60	2.17	95.7	6.6
金丝桃苷 Hyperoside	$y=5\ 363.9x+5\ 879.8$	0.2~40	0.998 9	0.10	0.80	97.1	4.3
异槲皮苷 Isoquercitrin	$y=181\ 483.8x+13\ 044.6$	0.2~40	0.997 7	1.20	2.36	96.9	1.8
烟花苷 Nicotiflorin	$y=70\ 804x-1\ 015.6$	0.1~20	0.999 5	1.28	2.38	106.8	6.1
紫云英苷 Astragalgin	$y=134\ 573x+33\ 565$	0.2~40	0.995 4	1.30	1.06	109.4	1.0
橙皮苷 Hesperidin	$y=158\ 532x+14\ 403.6$	0.01~2	0.997 6	0.10	2.13	99.5	5.0
阿福豆苷 Afzelin	$y=148\ 294x+83\ 405$	0.02~4	0.998 4	0.30	1.53	96.9	0.3
槲皮素 Quercetin	$y=12\ 245x+11\ 074$	0.2~40	0.999 7	1.10	0.73	109.4	5.9
柚皮素 Naringenin	$y=22\ 938.1x+287.3$	0.02~2	0.999 6	0.31	0.81	104.4	3.3
山奈酚 Kaempferol	$y=49\ 707x-18\ 761.3$	0.002~2	0.994 3	0.40	0.70	93.2	2.8

2.3 样品含量测定

采用建立的LC-MS/MS方法在MRM模式下测定8批嫩叶和10批老叶样品中15种酚类化合物,对照品和样品信号归一化处理后的色谱图见图2。具体测定结果见表4。

2.4 差异性分析

将含量测定结果导入SPSS 23.0软件,采用ANOVA分析两类老鹰茶中15种酚类成分含量的差异。结果如表5所示,两类老鹰茶中儿茶素、对香豆酸、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、紫云英苷、阿福豆苷、槲皮素、山奈酚差异明显($P<0.05$),嫩叶茶中以上9种化合物的含量明显高于老叶茶。其平均含量高的成分为儿茶素[($1\ 258.46\pm 280.64$) $\text{mg}\cdot 100\ \text{g}^{-1}$]、紫云英苷[(309.65 ± 52.54) $\text{mg}\cdot 100\ \text{g}^{-1}$]、异槲皮苷[(246.75 ± 42.18)

$\text{mg}\cdot 100\ \text{g}^{-1}$]、金丝桃苷[(134.08 ± 70.73) $\text{mg}\cdot 100\ \text{g}^{-1}$]、槲皮素[(89.50 ± 45.42) $\text{mg}\cdot 100\ \text{g}^{-1}$]。嫩叶茶中最突出的儿茶素、异槲皮苷、紫云英苷平均含量比老叶茶分别高 $1\ 039.43$ 、 169.12 、 $257.35\ \text{mg}\cdot 100\ \text{g}^{-1}$ 。两类茶叶中新绿原酸、绿原酸、表儿茶素、芦丁、橙皮苷、柚皮素含量无显著性差异($P>0.05$)。

2.5 HCA

HCA多用于同类样品中多化学成分、生物活性、功能特性物质分析,以判别不同样品之间的联系(Wang et al., 2022)。以18批老鹰茶的15种酚类化合物含量测定结果为变量导入Origin软件得到聚类热图,采用组间连接法以欧氏平方距离进行聚类分析,结果见图3。由图3可知,基于两类茶叶中酚类化合物含量的差异,嫩叶茶与老叶

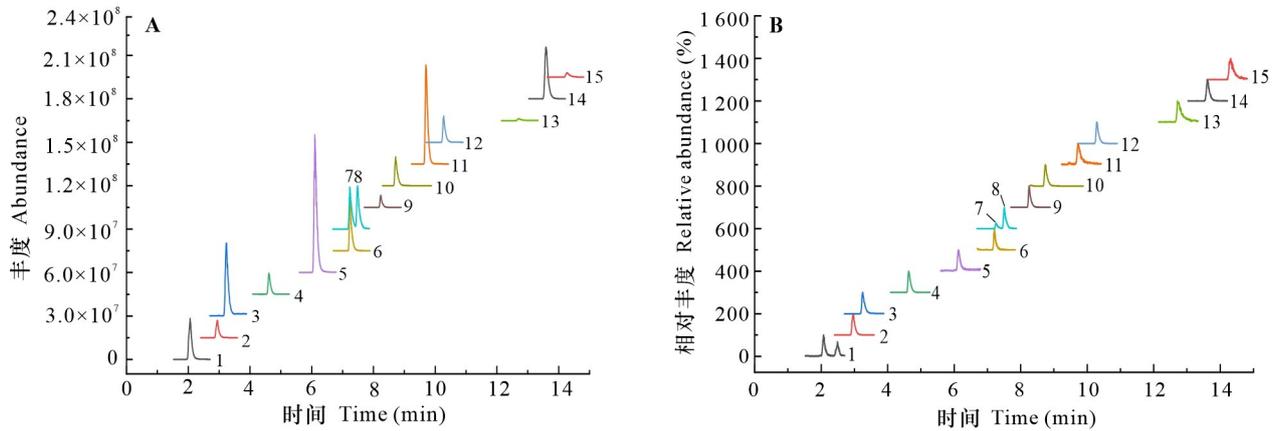


图 2 对照品色谱图 (A) 和样品色谱图 (B)

Fig. 2 Chromatograms of reference substances (A) and samples (B)

表 4 18 批老鹰茶样品中 15 种化合物含量测定结果

Table 4 Contents of 15 chemical compounds in 18 batches of Hawk tea

样品 Sample	新绿原酸 Neochlorogenic acid	儿茶素 Catechin	绿原酸 Chlorogenic acid	表儿茶素 Epicatechin	对香豆酸 <i>p</i> -coumaric acid	芦丁 Rutin	金丝桃苷 Hyperoside	异槲皮苷 Isoquercitrin	烟花苷 Nicotiflorin	紫云英苷 Astragalgin	橙皮苷 Hesperidin	阿福豆苷 Afzelin	槲皮素 Quercetin	柚皮素 Naringenin	山奈酚 Kaempferol
1	21.15	1 266.68	184.42	124.71	0.32	5.62	200.82	253.88	19.07	323.55	0.22	4.99	119.35	11.42	0.19
2	9.19	1 402.96	229.23	68.66	0.54	7.43	269.81	329.38	24.24	375.08	0.67	8.81	132.17	18.83	0.28
3	0.45	862.47	87.99	33.87	0.54	6.95	79.59	220.52	23.03	355.32	2.63	3.12	148.97	8.35	0.27
4	1.27	1 420.00	164.12	127.19	0.61	6.70	74.08	232.68	17.07	291.36	0.20	8.91	34.28	10.44	0.73
5	0.42	921.05	75.06	38.99	0.34	7.80	60.54	190.24	20.07	250.71	0.23	3.12	99.83	8.94	0.36
6	0.09	1 498.13	49.58	74.78	0.51	5.61	137.23	238.95	21.23	333.46	0.26	6.49	53.17	7.59	0.41
7	0.76	1 631.11	208.56	124.50	0.50	8.95	124.91	279.93	23.96	327.83	0.24	8.02	98.95	13.59	0.80
8	0.63	1 065.27	102.30	81.17	0.29	4.48	125.65	228.44	10.58	219.89	0.30	4.74	29.26	9.78	0.32
9	0.29	471.75	18.54	316.73	0.18	2.64	18.12	71.38	7.05	90.98	0.22	2.89	62.90	3.09	0.42
10	0.76	168.87	40.40	44.52	0.14	2.67	5.61	27.83	2.27	18.30	0.19	0.46	21.51	1.08	0.06
11	—	798.81	6.98	445.64	0.18	1.59	19.46	93.68	6.66	162.45	0.23	2.64	39.04	0.67	0.13
12	0.16	577.45	24.87	441.57	0.20	3.05	30.22	91.08	10.82	159.42	0.17	3.64	40.09	1.07	0.18
13	4.41	94.97	382.38	99.02	0.29	13.05	86.61	87.94	8.88	19.15	0.24	1.30	25.55	22.38	0.14
14	1.30	11.85	290.06	15.28	0.14	19.60	79.85	82.30	16.53	14.09	0.58	0.59	33.35	11.72	0.18
15	0.94	44.71	367.58	20.31	0.16	13.44	107.04	104.78	8.30	22.02	0.18	0.74	42.80	13.35	0.15
16	2.92	13.34	375.94	61.59	0.16	13.67	97.34	102.97	7.97	14.39	6.20	1.18	15.43	7.44	0.11
17	0.37	5.97	279.62	11.46	0.14	3.51	72.25	73.41	4.09	16.77	0.59	1.10	28.18	6.02	0.09
18	—	2.59	230.51	36.19	0.03	10.74	42.99	40.95	4.40	5.46	0.27	1.30	14.68	0.40	0.05

mg · 100 g⁻¹

茶能很好地分类。HCA 分析结果提示,可基于 15 种酚类化合物含量的测定对嫩叶茶、老叶茶进行辨别,但对其产地并无明显辨识度,推测老嫩叶茶之间的差异远大于地域差异。

2.6 PCA

以 15 种酚类化合物的含量为变量,采用 PCA 计算主成分特征值累计贡献率、初始因子载荷矩阵及综合得分。由表 6 可知,选取特征值大于 1 的

成分,其累计贡献率达 80.210%,说明所得主成分能较好地解释总体。第 1 主成分的特征值得分为 7.418,累计贡献率为 49.450%,儿茶素、对香豆酸、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、紫云英苷、阿福豆苷、槲皮素、柚皮素、山奈酚在第 1 主成分上载荷绝对值大于 0.5,表示第 1 主成分主要反映以上 10 种成分的信息;第 2 主成分得分 3.299,方差百分比为 21.996%,表儿茶素、槲皮素、绿原酸、芦丁在

表 5 两类老鹰茶 15 种酚类化合物的单因素方差分析
Table 5 One-way ANOVA of 15 phenolic compounds in two kinds of Hawk tea

化合物 Compound	平均值±标准差 $\bar{x}\pm s$		F 值 F value	P 值 P value
	嫩叶茶 Tender leaf tea (mg · 100 g ⁻¹)	老叶茶 Old leaf tea (mg · 100 g ⁻¹)		
新绿原酸 Neochlorogenic acid	4.25±7.47	1.12±1.45	1.70	0.21
儿茶素 Catechin	1 258.46±280.64	219.03±289.49	58.85	<0.01
绿原酸 Chlorogenic acid	137.66±67.29	201.69±161.24	1.10	0.31
表儿茶素 Epicatechin	84.23±37.85	149.23±179.15	1.01	0.33
对香豆酸 <i>p</i> -coumaric acid	0.46±0.12	0.16±0.06	44.12	<0.01
芦丁 Rutin	6.69±1.42	8.4±6.42	0.54	0.48
金丝桃苷 Hyperoside	134.08±70.73	55.95±36.86	9.19	0.01
异槲皮苷 Isoquercitrin	246.75±42.18	77.63±25.45	111.25	<0.01
烟花苷 Nicotiflorin	19.91±4.51	7.7±4.01	36.95	<0.01
紫云英苷 Astragalin	309.65±52.54	52.3±62.03	87.29	<0.01
橙皮苷 Hesperidin	0.59±0.84	0.89±1.87	0.17	0.69
阿福豆苷 Afzelin	6.03±2.39	1.58±1.08	27.80	<0.01
槲皮素 Quercetin	89.5±45.42	32.35±14.64	14.19	<0.01
柚皮素 Naringenin	11.12±3.64	6.72±7.22	2.45	0.14
山奈酚 Kaempferol	0.42±0.22	0.15±0.10	11.49	<0.01

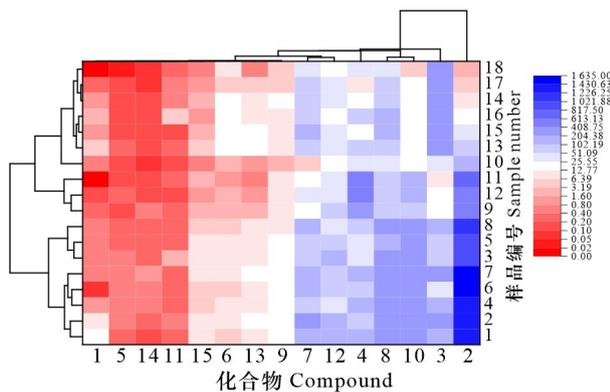


图 3 基于 HCA 分析的样品聚类热图

Fig. 3 Heat map of samples based on HCA analysis

第 2 成分上载荷绝对值大于 0.5, 提示第 2 主成分主要包含这 4 种成分的信息; 第 3 主成分得分 1.315, 方差百分比为 8.764%, 主要反映新绿原酸、柚皮素的信息。各化合物因子载荷详见表 7。进一步采用特征值大于 0.5 的 5 个主成分, 其累计贡献率达 90.942%, 能很好地反映总体。以各主成分因子得分与特征值贡献率的乘积计算两类老鹰

茶的综合评分 (F), $F = 0.494 51F_1 + 0.219 96F_2 + 0.087 64F_3 + 0.065 56F_4 + 0.041 17F_5$, 结果详见表 8。由综合评分排名可知, 大部分嫩叶茶样品综合得分高于老叶茶样品, 评分最高的为 S2, 其次为 S1, 两个样品均来自安徽宣城; 老叶茶 S16、S13 综合得分高于嫩叶茶 S8, 证明部分老叶茶亦具有良好的质量。

利用 PC1 和 PC2 绘制二维散点得分图, 如图 4 所示, 嫩叶茶与老叶茶分布相对集中且相互独立, 与聚类分析结果一致。

2.7 OPLS-DA

OPLS-DA 是结合正交信号矫正和偏最小二乘法通过去除不相关的差异信息来筛选变量, 从而达到判别分类作用 (Kang et al., 2022)。基于 15 种酚类化合物含量的 OPLS-DA 判别分析其 R^2X (cum)、 R^2Y (cum)、 Q_2 (cum) 分别为 0.759、0.948、0.837, 说明所建立的模型稳定可靠 (严雅慧等, 2021)。其相关系数正负代表其对判别分析的正相关和负相关, 变量投影重要性 (variable importance in projection, VIP) 值代表其权重, 以 VIP 值大于 1 为显著影响 (李振雨等, 2021)。结

表 6 特征值及方差贡献率

Table 6 Eigenvalue and variance contribution rate

成分 Component	特征值 Eigenvalue			提取载荷平方和 Extract the sum of squared loads		
	总计 Total	方差百分比 Percentage variance (%)	累计贡献率 Accumulation contribution rate (%)	总计 Total	方差百分比 Percentage variance (%)	累计贡献率 Accumulation contribution rate (%)
1	7.418	49.450	49.450	7.418	49.450	49.450
2	3.299	21.996	71.446	3.299	21.996	71.446
3	1.315	8.764	80.210	1.315	8.764	80.210
4	0.983	6.556	86.765	—	—	—
5	0.627	4.177	90.942	—	—	—
6	0.495	3.300	94.243	—	—	—

表 7 因子载荷矩阵

Table 7 Load matrix of factors

化合物 Compound	主成分 Principal component		
	1	2	3
新绿原酸 Neochlorogenic acid	0.427	0.320	0.760
儿茶素 Catechin	0.903	-0.346	-0.047
绿原酸 Chlorogenic acid	-0.150	0.931	-0.068
表儿茶素 Epicatechin	-0.114	-0.705	0.204
对香豆酸 <i>p</i> -coumaric acid	0.910	-0.067	-0.267
芦丁 Rutin	-0.110	0.840	-0.312
金丝桃苷 Hyperoside	0.731	0.483	0.327
异槲皮苷 Isoquercitrin	0.975	0.048	-0.005
烟花苷 Nicotiflorin	0.920	0.102	-0.142
紫云英苷 Astragaln	0.944	-0.274	0.035
橙皮苷 Hesperidin	-0.121	0.388	-0.062
阿福豆苷 Afzelin	0.800	-0.023	0.244
槲皮素 Quercetin	0.531	0.687	-0.074
柚皮素 Naringenin	0.661	-0.245	-0.568
山奈酚 Kaempferol	0.974	0.018	0.015

表 8 两类老鹰茶主成分综合评分结果

Table 8 Principal component comprehensive scoring results of two kinds of Hawk tea

样品 Sample	F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F	排名 Rank
2	0.921	0.185	0.099	-0.006	-0.003	1.197	1
1	0.584	0.093	0.255	-0.018	0.012	0.926	2
7	0.682	-0.022	-0.130	-0.026	0.032	0.536	3
3	0.480	-0.031	-0.031	0.138	-0.064	0.493	4
6	0.461	-0.129	-0.058	0.004	-0.020	0.258	5
4	0.438	-0.107	-0.142	-0.036	0.043	0.196	6
5	0.277	-0.069	-0.047	0.008	-0.060	0.109	7
16	-0.470	0.333	-0.015	0.188	0.068	0.106	8
13	-0.223	0.315	-0.008	-0.098	0.041	0.028	9
8	0.120	-0.071	-0.012	-0.027	-0.004	0.005	10
15	-0.299	0.271	-0.018	-0.062	-0.011	-0.118	11
14	-0.320	0.297	-0.065	-0.035	-0.013	-0.136	12
17	-0.490	0.052	0.027	-0.017	-0.035	-0.463	13
12	-0.312	-0.331	0.043	0.006	0.050	-0.544	14
9	-0.271	-0.295	0.001	-0.008	0.022	-0.551	15
11	-0.307	-0.373	0.061	0.007	0.045	-0.567	16
18	-0.666	0.047	0.004	-0.014	-0.040	-0.669	17
10	-0.606	-0.166	0.033	-0.005	-0.062	-0.806	18

果如图 5 所示,两类老鹰茶可完全分类,对嫩叶茶、老叶茶判别呈正性作用且权重大于 1 的成分是儿茶素、对香豆酸、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、紫云英苷、阿福豆苷,结果与二者之间成分的方差分析和主成分分析结果高度重合,两种老鹰茶可通过这些成分的差异来辨别。而对判别分析呈负性作用且 VIP 值小于 1 的新绿原酸、绿原酸、表儿茶素、芦丁、柚皮素则与方差分析中无明显差

别的化合物,并且与主成分分析中的第 2 主成分高度重合,而这些成分可能是老叶茶也具有抗氧化活性的因素。

2.8 抗氧化活性测定及差异分析

不同批次老鹰茶的 DPPH 自由基清除率、ABTS⁺自由基清除率、FRAP 值测定结果见表 9。两类老鹰茶在 DPPH 自由基清除率、ABTS⁺自由基清

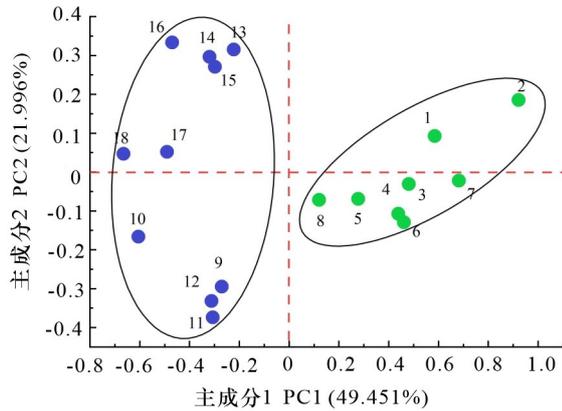


图 4 18 批老鹰茶 PCA 综合得分散点图

Fig. 4 PCA scatter plot of 18 batches of Hawk tea

除率、FRAP 值之间的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步进行 ANOVA 分析, 结果如表 10 所示, 嫩叶茶在抗氧化实验中展现出更强的活性, 比较其平均值及标准差可知, 老叶老鹰茶亦具有可观的抗氧化能力。

2.9 PLSR 分析探讨老鹰茶抗氧化物质基础

PLSR 分析是常用的相关性分析方法, 可以明确不同化合物对于活性的贡献。因此, 进一步通过 PLSR 探索老鹰茶中抗氧化活性关键化合物。分析自变量的标准回归相关系数及其变量投影, 相关系数的正负代表其与因变量呈正性或负性关系, 其 VIP 值大小则代表其权重, 值越大其贡献率越高 (Burnett et al., 2021)。结果如图 6 所示, 异槲皮苷、儿茶素、紫云英苷、绿原酸、金丝桃苷、对香豆酸、山奈酚相关系数为正值且 VIP 值均大于 1, 说明这 7 种化合物为发挥老鹰茶抗氧化活性的关键成分。其中, 嫩叶、老叶茶中绿原酸含量无明显差异, 老叶茶绿原酸平均含量高达 (201.69 ± 161.24) $\text{mg} \cdot 100 \text{g}^{-1}$, 可进一步解释老叶茶亦具有一定抗氧化活性。

3 讨论与结论

根据测定结果, 由于采集部位的不同, 嫩叶酚类化合物总含量、体外抗氧化活性均优于老叶。综合 ANOVA、PCA、OPLS-DA 结果可知儿茶素、对香豆酸、异槲皮苷、金丝桃苷、烟花苷、紫云英苷、山奈酚、阿福豆苷、槲皮素、山奈酚的含量在两类

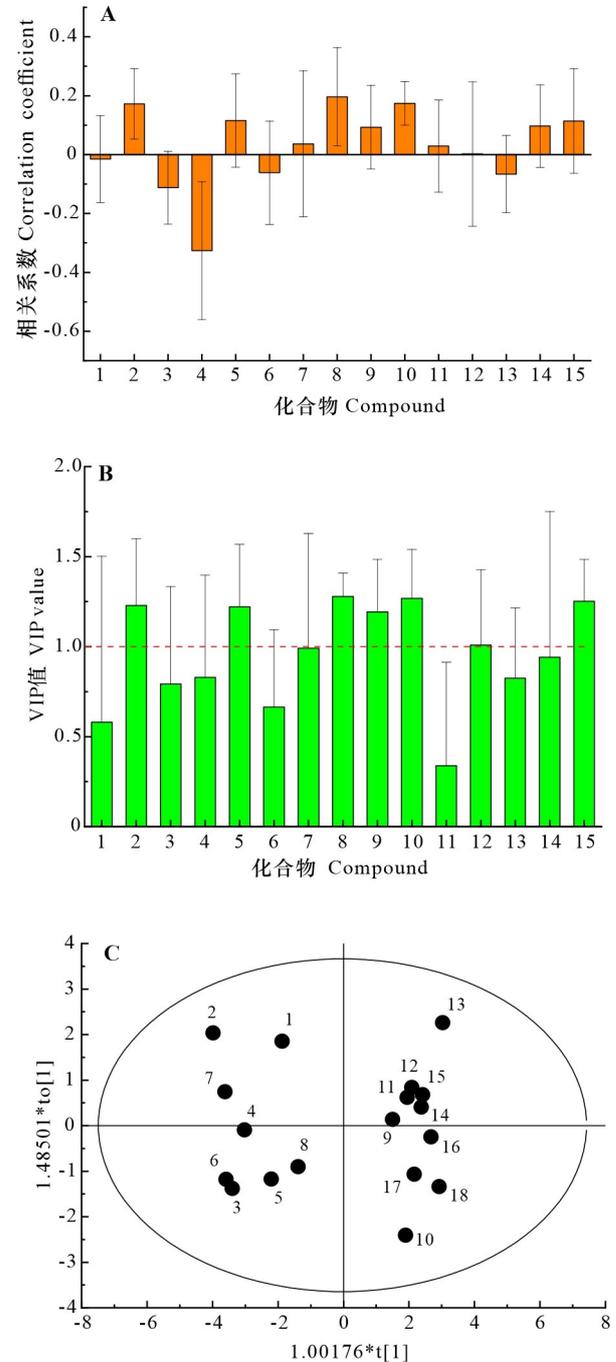


图 5 基于 OPLS-DA 分析的相关系数 (A)、VIP 值 (B)、得分图 (C)

Fig. 5 Correlation coefficient (A), VIP value (B), and score plot (C) based on OPLS-DA analysis

老鹰茶中差异明显, 嫩叶中以上成分含量明显高于老叶。其中, 嫩叶茶中儿茶素的含量与老叶茶相差最为突出, 嫩叶茶制备加工是类似于传统茶叶采集嫩芽、嫩叶的生产工艺, 由于儿茶素易溶于

表 9 两类老鹰茶抗氧化活性结果
Table 9 Results of antioxidant activity of two kinds of Hawk tea

样品 Sample	DPPH 自由基清除率 DPPH radical scavenging rate (%)	ABTS 自由基 清除率 ABTS radical scavenging rate (%)	FRAP 值 FRAP value (mg TE · g ⁻¹ DW)
1	63.5	44.5	3.02
2	83.6	73.1	3.06
3	67.7	52.9	2.87
4	70.1	60.3	3.18
5	45.7	37.7	2.51
6	75.5	70.6	2.93
7	78.8	72.8	3.19
8	48.7	42.0	2.59
9	51.6	40.4	2.21
10	22.2	15.1	0.81
11	69.3	56.6	2.62
12	51.4	42.9	2.23
13	52.2	39.0	2.61
14	37.2	24.8	1.90
15	52.2	42.8	2.68
16	55.6	44.4	2.67
17	61.2	46.2	2.47
18	65.0	55.1	2.76

热水 (Cuevas-Valenzuela et al., 2014) 且在嫩叶茶中的含量相当丰富, 饮用方式与传统茶叶般沸水冲泡即可获得良好的口感。而相比之下老叶茶中儿茶素含量较低, 因此为了更多地获取其中难溶于水的黄酮类化合物, 人们在食用老叶茶时更多地采用熬煮的方式, 将茶叶置于凉水里, 大火烧开后再以小火煮两三分钟或更长时间 (戴前莉等, 2022)。黄酮和酚酸类化合物是天然植物中的主要抗氧化活性成分 (Pérez-Torres et al., 2021; Arzola-Rodriguez et al., 2022), 老鹰茶质谱鉴定及测定的成分中主要以黄酮类化合物为主, 而咖啡酸系列衍生物新绿原酸和绿原酸含量在嫩叶、老叶茶中差异并不明显, 结合两类老鹰茶抗氧化活性差异, 可见黄酮类化合物是影响老鹰茶活性差异的主要成分。

PLSR 提示老鹰茶中与抗氧化活性密切相关的化学成分为异槲皮苷、儿茶素、紫云英苷、绿原酸、金丝桃苷、对香豆酸、山奈酚。其中, 绿原酸在两类茶中含量均较高且无明显差异, 结合含量测定、OPLS-DA 及 PLSR, 绿原酸等无差异的成分可能是老叶茶亦具有一定抗氧化活性的因素。这些成分均有被报道与抗氧化活性密切相关, 如 Morais

表 10 两类老鹰茶抗氧化 ANOVA 分析
Table 10 ANOVA analysis of antioxidation of two kinds of Hawk tea

指标 Index	嫩叶茶 Tender leaf tea		老叶茶 Old leaf tea		F 值 F value	P 值 P value
	平均值 Average	标准差 Standard deviation	平均值 Average	标准差 Standard deviation		
DPPH 自由基清除率 DPPH radical scavenging rate (%)	66.88	13.65	51.70	13.66	5.49	0.032
ABTS ⁺ 自由基清除率 ABTS ⁺ radical scavenging rate (%)	56.88	14.45	40.73	12.60	6.43	0.022
FRAP 值 FRAP value (mg TE · g ⁻¹ DW)	2.91	0.25	2.29	0.59	7.74	0.013

等 (2022) 发现古柯叶抗氧化活性与金丝桃苷、异槲皮苷的含量呈正比; 关于儿茶素抗氧化作用的研究等更是近年来研究的热点 (Thammarat et al., 2021; Liang et al., 2021; Xia et al., 2022); Du 等 (2022) 发现紫云英苷能抑制细胞胰岛素抵抗及氧化应激; Kluska 等 (2022) 发现山奈酚可激活抗氧化基因和蛋白质; Taha 等 (2020) 证实香豆酸可通过避免脂质过氧化、抑制细胞死亡和保存抗氧化

机制来恢复肝损伤等; 绿原酸类化合物具有抗氧化、护肝、抗炎、调血脂、抗细菌、抗病毒等多种活性亦备受关注 (Rojas-Gonzalez et al., 2022)。目前, 关于两类老鹰茶之间酚类化合物成分差异之间关注较少, 并未建立具体的质量标准。因此, 这些具有丰富活性的成分对两类老鹰茶的辨识和生产中质量标准的控制具有重要意义。

综上所述, 本研究采用 LC-MS/MS 测定了老

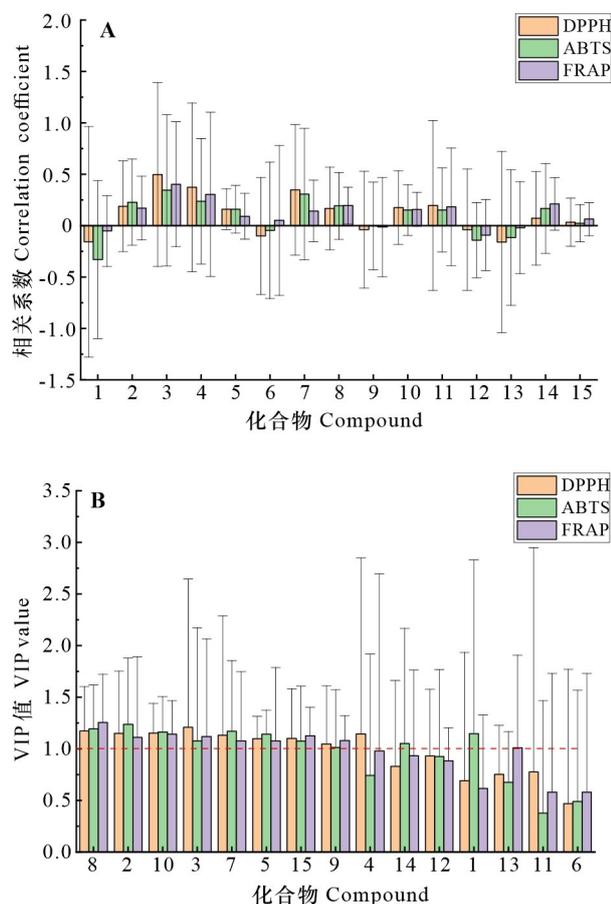


图 6 基于 PLSR 分析的相关系数 (A) 和 VIP 值 (B)
Fig. 6 Correlation coefficient (A) and VIP value (B) based on PLSR analysis

鹰茶中 15 种酚类化合物含量,并基于此建立了两类老鹰茶 HCA、PCA、OPLS-DA 模型,并通过 PLSR 分析明确了老鹰茶的主要抗氧化活性成分,对老鹰茶的质量控制及开发利用有一定的参考价值。

参考文献:

- AI AT, LI YL, CHEN LX, et al., 2021. Research progress and development and utilization status of Hawk tea [J]. *Guangdong Tea Ind*, (3): 35-40. [艾安涛, 李燕丽, 陈凌霄, 等, 2021. 老鹰茶的研究进展与开发利用现状 [J]. *广东茶业*, (3): 35-40.]
- ARZOLA-RODRINGUEZ SI, MUNOZ-CASTELLANOS LN, LOPEZ-CAMARILLO C, et al., 2022. Phenolipids, amphiphilic phenolic antioxidants with modified properties and their spectrum of applications in development: a review [J]. *Biomolecules*, 12(12): 1897.
- BURNETT AC, ANDERSON J, DAVIDSON KJ, et al., 2021. A best-practice guide to predicting plant traits from leaf-level hyperspectral data using partial least squares regression [J]. *J Exp Bot*, 72(18): 6175-6189.
- CUEVAS-VALENZUELA J, GONZALEZ-ROJAS Á, WISNIAK J, et al., 2014. Solubility of (+)-catechin in water and water-ethanol mixtures within the temperature range 277.6-331.2K: Fundamental data to design polyphenol extraction processes [J]. *Fluid Phase Equil*, 382: 279-285.
- CHEN Z, ZHANG D, GUO JJ, et al., 2019. Active components, antioxidant, inhibition on metabolic syndrome related enzymes, and monthly variations in mature leaf Hawk tea [J]. *Molecules*, 24(4): 657.
- CHEN P, ZHOU MM, FANG SZ, et al., 2020. Effects of light quality on accumulation of phenolic compounds and antioxidant activities in *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja leaves from different families [J]. *J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed)*, 44(2): 17-25. [陈培, 周明明, 方升佐, 等, 2020. 光质对不同家系青钱柳叶酚类物质积累及抗氧化活性的影响 [J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 44(2): 17-25.]
- DAI QL, ZHU HX, LU M, et al., 2022. Development and utilization status of *Litsea coreana* and its industrial development countermeasures [J]. *Mod Agric Sci Technol*, (5): 195-199. [戴前莉, 朱恒星, 卢敏, 等, 2022. 老鹰茶开发利用现状及产业化发展对策 [J]. *现代农业科技*, (5): 195-199.]
- DU H, DUAN SD, LEI R, et al., 2022. Astragalin inhibits insulin resistance and oxidative stress in palmitic acid-induced HEPG2 cells [J]. *Curr Top Nutraceut R*, 20(4): 635-640.
- FENG JF, YANG J, CHANG Y, et al., 2019. Caffeine-free Hawk tea lowers cholesterol by reducing free cholesterol uptake and the production of very-low-density lipoprotein [J]. *Commun Biol*, 2(1): 173.
- KLUSKA M, JUSZCZAK M, ZUCHOWSKI J, et al., 2022. Effect of kaempferol and its glycoside derivatives on antioxidant status of HL-60 cells treated with etoposide [J]. *Molecules*, 27(2): 333.
- KANG C, ZHANG Y, ZHANG M, et al., 2022. Screening of specific quantitative peptides of beef by LC-MS/MS coupled with OPLS-DA [J]. *Food Chem*, (387): 132932.
- LI YH, LAN L, XIE L, et al., 2021. Study on antibacterial and antioxidant activities of alcohol extract from Sichuan Hawk tea [J]. *J Tea Coummun*, 48(4): 724-729. [李宇航, 兰林, 谢玲, 等, 2021. 四川老鹰茶醇提物的抑菌及抗氧化活性研究 [J]. *茶叶通讯*, 48(4): 724-729.]
- LI ZY, HE JY, TONG PZ, et al., 2021. Differences of *Magnolia biondii* from different producing areas based on fingerprint and multi-components determination [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 52(1): 234-240. [李振雨, 何嘉莹, 童培珍, 等, 2021. 基于 UPLC 指纹图谱和多成分定量的辛夷药材产地差异性研

- 究 [J]. 中草药, 52(1): 234-240.]
- LIU B, 2010. Simultaneous quantification of seven flavonoids in eagle tea using pressurized liquid extraction and HPLC [J]. Chin J Pharm Anal, 30(8): 1424-1427. [刘斌, 2010. 加压溶剂提取-HPLC 法同时测定老鹰茶中 7 个黄酮类化合物 [J]. 药物分析杂志, 30(8): 1424-1427.]
- LIANG TS, JIAO SS, JING P, 2021. Molecular interaction between pectin and catechin/procyanidin in simulative juice model: Insights from spectroscopic, morphology, and antioxidant activity [J]. J Food Sci, 86(6): 2445-2456.
- MARY SJ, MERINA AJ, 2021. Studies on total antioxidant activity of the extract of *Nyctanthes arbortristis* flower extract by DPPH radical-scavenging activity and superoxide anion scavenging activity assay [J]. J Med Plants Stud, 9(2): 160-164.
- MORAIS ND, MARTINS DHN, FAGG CW, et al., 2022. Seasonal monitoring of the antioxidant activity of *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil. leaves; correlation with hyperoside and isoquercitrin contents [J]. Indian J Tradit Know, 21(2): 373-382.
- PAN XL, WANG FJ, ZHANG N, et al., 2021. Effects of different extraction methods on extraction effect and functional properties of Korean pine seed oil [J]. J Beijing For Univ, 43(1): 127-135. [潘晓丽, 王凤娟, 张娜, 等, 2021. 不同提取方法对红松籽油提取效果及功能性质的影响 [J]. 北京林业大学学报, 43(1): 127-135.]
- PÉREZ-TORRES I, CASTREJON-TELLEZ V, SOTO ME, et al., 2021. Oxidative stress, plant natural antioxidants, and obesity [J]. Int J Mol Sci, 22(4): 1786.
- QIN Z, FENG K, WANG WS, 2019. Advance in the studies on flavonoids of a Chinese traditional national tea, Hawk tea [J]. Food Res Dev, 40(2): 173-177. [秦昭, 冯堃, 王文蜀, 2019. 中国传统民族老鹰茶黄酮类成分研究进展 [J]. 食品研究与开发, 40(2): 173-177.]
- ROJAS-GONZALEZ A, FIGUEROA-HERNANDEZ CY, GONZALEZ-RIOS O, et al., 2022. Coffee chlorogenic acids incorporation for bioactivity enhancement of foods: a review [J]. Molecules, 27(11): 3400.
- TAN LH, ZHANG D, WANG G, et al., 2016. Comparative analyses of flavonoids compositions and antioxidant activities of Hawk tea from six botanical origins [J]. Ind Crops Prod, 80: 123-130.
- TAHA MME, MOHAN S, KHEDIASH H, et al., 2020. Amelioration of carbon tetrachloride-induced liver injury by *p*-coumaric acid [J]. Curr Top Nutraaceut R, 18(4): 337-342.
- THAMMARAT P, SIRILUN S, PHONGPRADIST R, et al., 2021. Validated HPTLC and antioxidant activities for quality control of catechin in a fermented tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) [J]. Food Sci Nutr, 9(6): 3228-3239.
- TAO W, CAO W, YU B, et al., 2022. Hawk tea prevents high-fat diet-induced obesity in mice by activating the AMPK/ACC/SREBP1c signaling pathways and regulating the gut microbiota [J]. Food Funct, (13): 6056-6071.
- WANG YX, DENG YL, YAO SL, et al., 2021. Comparison of quality of Hawk tea (*Litsea coreana* var. *sinensis*) in four counties of Guizhou Province [J]. Acta Agric Zhejiang, 33(1): 142-149. [王雨鑫, 邓燕莉, 姚松林, 等, 2021. 贵州 4 个县域豹皮樟老鹰茶的理化品质比较 [J]. 浙江农业学报, 33(1): 142-149.]
- WANG T, GUO S, REN X, et al., 2022. Simultaneous quantification of 18 bioactive constituents in *Ziziphus jujuba* fruits by HPLC coupled with a chemometric method [J]. Food Sci Human Wellness, 11(4): 711-780.
- WOLOSIK R, DURUZYNSKA B, DEREWIKA D, et al., 2021. Verification of the conditions for determination of antioxidant activity by ABTS and DPPH assays—a practical approach [J]. Molecules, 27(1): 50.
- XU T, HU SS, LIU Y, et al., 2022. Hawk tea flavonoids as natural hepatoprotective agents alleviate acute liver damage by reshaping the intestinal microbiota and modulating the Nrf2 and NF- κ B signaling pathways [J]. Nutrients, 14(17): 3662.
- XIAO X, XU L, HU H, et al., 2017. DPPH radical scavenging and postprandial hyperglycemia inhibition activities and flavonoid composition analysis of Hawk tea by UPLC-DAD and UPLC-Q/TOF MS(E) [J]. Molecules, 22(10): 1622.
- XIAO KM, MA JY, WANG JM, et al., 2022. Extraction process and antioxidant activity of polysaccharides from *Polygonatum kingianum* [J]. J SW For Univ (Nat Sci), 42(4): 147-154. [肖坤敏, 马佳钰, 王军民, 等, 2022. 滇黄精多糖提取工艺及其抗氧化活性研究 [J]. 西南林业大学学报(自然科学), 42(4): 147-154.]
- XIA YR, NI W, WANG XT, et al., 2022. Intermolecular hydrogen bonds between catechin and theanine in tea: slow release of the antioxidant capacity by a synergetic effect [J]. RSC Adv, 12(33): 21135-21144.
- YUAN M, JIA XJ, DING CB, et al., 2014. Comparative studies on bioactive constituents in Hawk tea infusions with different maturity degree and their antioxidant activities [J]. Sci World J, 2014: 838165.
- YAN YH, LI SP, ABDULA R, et al., 2021. Establishment of HPLC fingerprint, chemical pattern recognition analysis and content determination of aloe [J]. Nat Prod Res Dev, 33(3): 353-361. [严雅慧, 李淑萍, 热依木古丽·阿布都拉, 等, 2021. 芦荟的 HPLC 指纹图谱建立, 化学模式识别分析及其含量测定 [J]. 天然产物研究与开发, 33(3): 353-361.]