

文章编号:1001-6880(2018)11-1913-05

# DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS 快速筛选和 鉴定杜仲黑茶中抗氧化活性成分

施树云<sup>1,2\*</sup>, 郭柯柯<sup>2</sup>, 彭 胜<sup>1,3</sup>, 童超英<sup>2</sup>, 彭密军<sup>1,3</sup><sup>1</sup>吉首大学 杜仲综合利用技术国家地方联合工程实验室, 吉首 416000;<sup>2</sup>中南大学化学化工学院, 长沙 410003;<sup>3</sup>广东测试分析研究所 广东省化学危害应急检测技术重点实验室, 广州 510070

**摘要:**建立DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS方法快速筛选、鉴定和测定杜仲黑茶中抗氧化活性成分。杜仲黑茶提取物与DPPH自由基反应30 min后,9个抗氧化活性成分的HPLC峰消失或峰面积明显减少,结合QTOF-MS/MS谱图及与标准品对照,确定抗氧化活性成分为:没食子酸,新绿原酸、原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、表没食子儿茶素没食子酸酯、槲皮素-3-O-桑布双糖苷、芦丁和异槲皮苷。并建立HPLC法同时测定9个抗氧化活性成分的含量。所建立的方法无须繁琐的分离纯化过程,可快速、灵敏、准确、高通量筛选复杂体系中的抗氧化活性成分,并为杜仲黑茶的质量控制提供科学依据。

**关键词:**DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS; 杜仲黑茶; 抗氧化; 多酚

中图分类号:R284; Q946.8

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.11.010

## Rapid Screening and Identification of Antioxidants from Duzhong Brick Tea by DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS

SHI Shu-yun<sup>1,2\*</sup>, GUO Ke-ke<sup>2</sup>, PENG Sheng<sup>1,3</sup>, TONG Chao-ying<sup>2</sup>, PENG Mi-jun<sup>1,3</sup><sup>1</sup>National & Local United Engineering laboratory of Integrative Utilization Technology of Eucommia<sup>1</sup>ulmoides, Jishou University, Jishou 416000, China; <sup>2</sup>College of Chemistry and Chemical Engineering, Central<sup>2</sup>South University, Changsha 410083, China; <sup>3</sup>Guangdong Institute of Analysis Guangdong Provincial Key Laboratory

of Emergency Test for Dangerous Chemicals, Guangzhou 510070, China

**Abstract:** DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS was developed for rapid screening, identification and determination of antioxidants from Duzhong brick tea. After reaction with DPPH radical, HPLC peaks of nine antioxidants in Duzhong brick tea extract decreased or disappeared. By analysis of QTOF-MS/MS data, and by comparison with standards, their structures were identified as gallic acid, neochlorogenic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, (-)-epigallocatechin gallate, quercetin-3-O-sambubioside, rutin, and isoquercitrin. After that, a HPLC method was established for the simultaneous determination of nine antioxidants. The developed method had the potential to be a high throughput tool for rapid, sensitive, and accurate screening of bioactive compounds from complex matrices without tedious purification procedures, and the results could be used for quality evaluation and quality control of Duzhong brick tea.

**Key words:** DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS; Duzhong brick tea; antioxidant; polyphenol compound

自由基化学性质活跃,体内过度累积会引发细胞氧化损伤,从而影响心血管疾病、神经退行性疾病、免疫性疾病和癌症等<sup>[1]</sup>。抗氧化剂可延缓或阻止氧化应激反应,因此抗氧化已成为我国功能食品保健功效之一。

收稿日期:2018-06-27 接受日期:2018-09-27

基金项目:国家自然科学基金(31660181);杜仲综合利用技术国家地方联合工程实验室开发基金(NLE201601, NLE201602)

\*通信作者 Tel:86-731-88830833; E-mail:shishuyun@126.com

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)是我国特有名贵滋补药材,杜仲叶为其干燥叶,正式列入2005年版《中华人民共和国药典》,具有补肝肾,强筋骨功效<sup>[2]</sup>。现代化学成分及药理研究表明,杜仲叶含环烯醚萜类、酚酸类和黄酮类化合物<sup>[3]</sup>,具有降血压、降血脂、降血糖、抗炎、抗氧化等功效<sup>[3-5]</sup>。杜仲叶拟将被增补至药食同源目录,以杜仲叶为原料,经传统茶叶加工及中药饮片加工方法制作而成的杜仲茶在中国、日本和韩国等国家广泛流通。杜仲茶的加工

工艺对感官品质和活性成分影响较大<sup>[6]</sup>。杜仲黑茶是张家界茶坤缘生物科技开发有限公司研发的新产品,将杜仲叶和茶叶以8:2(m/m)混合,根据黑茶的加工工艺制作而成。杜仲叶和茶叶富含多酚类抗氧化活性化合物,易发生酶促反应,因此在渥堆发酵过程中含量降低。但目前,关于杜仲黑茶的抗氧化活性研究未见文献报道,为杜仲黑茶的开发提供依据,杜仲黑茶的抗氧化成分的研究具有重要意义。

天然产物成分复杂,传统活性导向的反复柱层析分离方法已鉴定了很多天然产物中的抗氧化活性成分,但是周期长,还存在不稳定活性成分变性的风险。DPPH自由基是一种良好的体外抗氧化筛选剂,抗氧化剂与DPPH自由基混合后,抗氧化剂把电子和质子传递给DPPH自由基,导致DPPH自由基紫色消退,在517 nm处的吸收减小,同时抗氧化剂被氧化,结构改变。基于此原理,结合HPLC高效分离能力和QTOF-MS/MS高精度、高灵敏的化合物定性确认能力,建立HPLC-QTOF-MS/M-DPPH和DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS技术,快速筛选天然产物复杂体系中的活性成分<sup>[7,9]</sup>。前者需要额外的DPPH自由基溶液输入泵和检测器及柱后反应通路,而后者无须任何改进,通过对比与DPPH自由基反应前后HPLC-QTOF-MS/MS谱图的变化,即可快速筛选和鉴定抗氧化活性成分。

本研究利用DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS技术简便快速筛选杜仲黑茶中抗氧化活性成分,并测定了抗氧化活性成分的含量,为杜仲黑茶的抗氧化物质基础研究提供数据支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器、试剂与材料

Agilent 1200高效液相色谱系统(配有在线脱气机、四元泵、恒温柱温箱、在线进样器和二极管阵列检测器);6530 Accurate-Mass QTOF质谱仪(Agilent公司,美国),配备电喷雾离子源;Milli-Q超纯水机(Millipore公司,美国)。

甲醇、乙腈和甲酸均为色谱纯(国药集团化学试剂有限公司,中国);DPPH自由基为分析纯(Sigma公司,美国);杜仲黑茶由张家界茶坤缘生物科技开发有限公司提供;对照品(没食子酸,新绿原酸,原儿茶酸,绿原酸,咖啡酸,表没食子儿茶素没食子酸酯,槲皮素-3-O-桑布双糖苷,芦丁和异槲皮苷)均购于中药药品生物制品检定所。

### 1.2 供试品和对照品溶液的制备

杜仲黑茶粉碎,称取10.0 g杜仲黑茶粉末于85℃下用75%乙醇溶液(80.0 mL)回流提取3次,每次提取2.0 h,合并提取液后抽滤并减压浓缩至干燥,得3.9 g浸膏。

精密称取没食子酸,新绿原酸,原儿茶酸,绿原酸,咖啡酸,表没食子儿茶素没食子酸酯,槲皮素-3-O-桑布双糖苷,芦丁和异槲皮苷对照品适量,用甲醇配成不同浓度的混合对照品溶液。

### 1.3 酶标仪法 DPPH自由基清除活性测定<sup>[10]</sup>

2.0 mL新鲜配置的DPPH甲醇溶液(0.8 mg/mL)与0.4 mL杜仲黑茶溶液(5.0~50.0 μg/mL)混合均匀,37℃下避光孵育30 min,在517 nm下测混合溶液吸光度A<sub>sample</sub>,以相同体积的甲醇代替样品作为空白对照,吸光度为A<sub>blank</sub>。DPPH自由基清除率=[(A<sub>blank</sub>-A<sub>sample</sub>)/A<sub>blank</sub>]×100%。

### 1.4 DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS方法

样品制备:0.2 mL杜仲黑茶溶液(2.0 mg/mL)与0.2 mL DPPH甲醇溶液(25.0 mg/mL)混合,37℃下避光孵育30 min,直接进行HPLC-QTOF-MS/MS检测。等体积甲醇替代DPPH自由基溶液作为空白对照组。

色谱条件:流动相A为0.4%醋酸溶液,流动相B为乙腈溶液,梯度洗脱:0~10 min,12% B;10~16 min,12%~18% B;16~40 min,18% B。色谱柱:Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5 μm, Agilent,美国);流速:0.8 mL/min;柱温:25℃;检测波长:254 nm;进样量:20 μL。

质谱条件:ESI源为正离子模式;扫描范围:100~1200 m/z;毛细管电压:3500 V;干燥气体温度:350℃;干燥气体流量:10.0 L/min;鞘气温度:350℃;鞘气流速:12.0 L/min;毛细管出口电压:180 V;碰撞电压:40 eV;过滤器电压:65 V。

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱条件的优化

杜仲黑茶化学成分结构多样,极性差异大,需采用梯度洗脱。醋酸能够抑制多酚类抗氧化活性成分中酚羟基的离解,改善分离效果和峰型,同时醋酸能够提高质谱正离子模式下的离子化效率。比较甲醇和乙腈作为流动相时不同梯度洗脱程序下的HPLC谱图发现,以乙腈作为流动相分离度较好,峰形对称性高,无拖尾现象。因此,在流速为0.8 mL/min时,

选用 0.4% 醋酸水溶液 (A) 和乙腈溶液 (B) 为流动相进行梯度洗脱: 0~10 min, 12% B; 10~16 min, 12%~18% B; 16~40 min, 18% B。在此色谱条件下, 各化合物能达到基本分离, 分离过程在 40 min 内完成, 能满足定性定量分析的要求, 色谱图见图 1a。

## 2.2 DPPH-HPLC 筛选

酶标仪法测定杜仲黑茶提取物清除 DPPH 自由基的  $IC_{50}$  值为  $17.0 \pm 2.0 \mu\text{g/mL}$ , 表明杜仲黑茶富含抗氧化活性成分。

在 DPPH-HPLC 实验中, 调节 DPPH 自由基与杜仲黑茶提取物溶液的反应比例, 确保 DPPH 自由基在反应中是过量的。对比实验组和空白对照组 HPLC 谱图发现, 化合物 1~9 与 DPPH 自由基反应后峰消失或峰面积大大降低(图 1), 说明化合物 1~9 具有抗氧化活性。

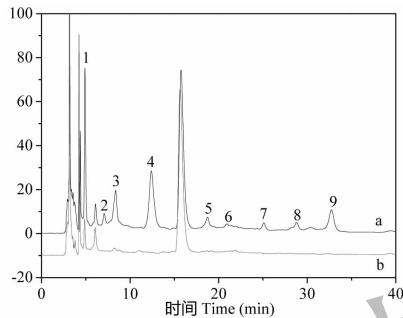


图 1 杜仲黑茶提取物与 DPPH 自由基反应(a)前(b)后的 HPLC 谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of Duzhong brick tea extract before (a) and after (b) addition of DPPH radical

## 2.3 抗氧化活性成分结构鉴定

杜仲黑茶提取物的一级质谱全扫描图如图 2 所示, 根据一级和二级高分辨质谱信息, 并与对照品比对, 对抗氧化活性成分 1~9 进行结构鉴定, 化合物的最大紫外吸收、一级和二级质谱信息见表 1。

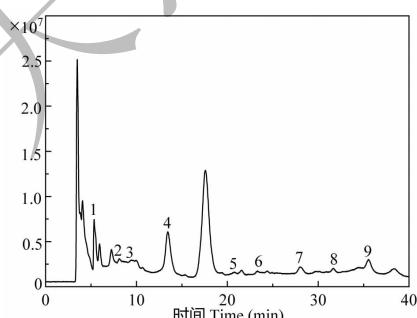


图 2 杜仲黑茶提取物的全扫描质谱图

Fig. 2 Full-scan mass spectrum of Duzhong brick tea extract

化合物 1 的母离子峰  $m/z$  171.0291 ( $C_7H_6O_5$ ), 化合物 3 的母离子峰比化合物 1 少 16 Da ( $m/z$  155.0347,  $C_7H_6O_4$ ), 且化合物 1 和 3 均产生 ( $[M + H - 44]^+$ ) 的碎片离子峰。结合紫外特征吸收, 化合物 1 和 3 与对照品没食子酸和原儿茶酸的谱图信息一致。

化合物 2、4 和 5 具有咖啡酰基类化合物的典型紫外特征吸收。化合物 5 的母离子峰  $m/z$  181.0499 ( $C_9H_8O_4$ ) 和子离子峰  $m/z$  137.0600 ( $[M + H - 44]^+$ ) 表明其为咖啡酸。化合物 2 和 4 有相同的母离子峰  $m/z$  355.1021 ( $C_{16}H_{18}O_9$ ) 和子离子峰  $m/z$  181.0501 ([咖啡酸 + H] $^+$ ), 根据出峰顺序及与对照品比对, 确定化合物 2 和 4 为新绿原酸和绿原酸。

化合物 6 的最大紫外吸收波长为 272 nm, 母离子峰  $m/z$  459.0913 ( $C_{22}H_{18}O_{11}$ ), 碎片离子峰  $m/z$  289.0702 [ $M\text{-没食子酰基} + H$ ] $^+$ , 通过对照品比对确定化合物 6 为表没食子儿茶素没食子酸酯。

化合物 7~9 具备黄酮醇类化合物的紫外特征吸收: 带 I 在 355 nm 左右, 带 II 在 254 nm 左右。化合物 7、8 和 9 的  $[M + H]^+$  峰分别为  $m/z$  597.1445 ( $C_{26}H_{29}O_{16}$ ), 611.1600 ( $C_{27}H_{31}O_{16}$ ), 465.1025 ( $C_{21}H_{21}O_{12}$ ), 在二级质谱中均产生  $m/z$  303.0496 ( $C_{15}H_{10}O_7$ , 槲皮素) 的碎片离子, 丢失的糖基碎片分别为木糖-葡萄糖二糖基 (132 + 162 Da), 鼠李糖-葡萄糖二糖基 (146 + 162 Da) 和葡萄糖基 (162 Da)。因此, 化合物 7~9 被鉴定为槲皮素-3-O-桑布双糖苷、芦丁和异槲皮苷, 鉴定结果通过对照品确证。

## 2.4 抗氧化活性成分含量测定

将系列浓度的对照品混合溶液进行 HPLC 分析, 以各成分的峰面积 ( $Y$ ) 对样品浓度 ( $X$ ) 绘制标准曲线, 得线性回归方程, 各对照品的回归方程、相关系数、线性范围、最低检测限、最低检测量见表 2, 表明线性关系良好。

取混合对照品溶液进行日内和日间精密度考察 (表 3), 日内精密度的 RSD 在 2.4%~6.4% 之间, 日间精密度的 RSD 在 6.3%~11.7% 之间, 表明仪器精密度良好、对照品溶液在 3 天内稳定性良好。精密称取 0.05 g 杜仲黑茶粉末, 按照“1.2”的方法制备供试液, 分别按 9 种活性成分含量的 50%、100% 和 150% 加入各对照品溶液, 得加样回收率在 94.15%~105.38% 之间。最后, 测定杜仲黑茶样品 3 次, 计算各抗氧化活性化合物的含量 (表 3)。

表 1 杜仲黑茶中 9 个主要抗氧化活性化合物的结构鉴定

Table 1 Identification of nine major antioxidants in Duzhong brick tea

序号 No.	最大吸收波长 Maximum adsorption wavelength $\lambda_{\max}$ (nm)	正离子 Positive mode		分子式 Formula	化合物名称 Identification
		[M + H] <sup>+</sup> (Δ ppm)	MS/MS		
1	272	171.0291 (-1.2)	127.0392	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	没食子酸 Gallic acid
2	242,325	355.1021 (-0.3)	181.0501	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	新绿原酸 Neochlorogenic acid
3	260,295	155.0347 (1.9)	111.0448	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	原儿茶酸 Protocatechuic acid
4	241,325	355.1021 (-0.2)	181.0500	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	绿原酸 Chlorogenic acid
5	243,325	181.0499 (-0.1)	137.0600	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	咖啡酸 Caffeic acid
6	272	459.0913 (-0.1)	289.0702	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	表没食子儿茶素没食子酸酯 Epigallocatechin gallate
7	256,355	597.1445 (-0.8)	303.0496	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>16</sub>	槲皮素-3-O-桑布双糖苷 Quercetin-3-O-sambubioside
8	254,355	611.1600 (-1.0)	303.0492	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	芦丁 Rutin
9	254,353	465.1025 (-0.7)	303.0496	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	异槲皮苷 Isoquercitrin

表 2 各抗氧化活性成分的回归方程、相关系数、线性范围、最低检测限和最低检测量

Table 2 The regression equation, correlation coefficient, linear range, limit of detection, and limit of quantification of each antioxidant

化合物 Compounds	回归方程 Regression equation	相关系数 Regression coefficient ( $r^2$ )	线性范围 Linear range ( $\mu\text{g/mL}$ )	最低检测限 Limit of detection ( $\mu\text{g/mL}$ )	最低检测量 Limit of quantification ( $\mu\text{g/mL}$ )
没食子酸 Gallic acid	$Y = 32.1X - 29.1$	0.9980	0.2 ~ 30.0	0.005	0.01
新绿原酸 Neochlorogenic acid	$Y = 29.7X + 2.6$	0.9996	2.0 ~ 150.0	0.5	1.5
原儿茶酸 Protocatechuic acid	$Y = 49.3X - 40.8$	0.9995	1.0 ~ 00.0	0.4	0.9
绿原酸 Chlorogenic acid	$Y = 56.1X - 23.0$	0.9990	2.0 ~ 150.0	0.8	1.5
咖啡酸 Caffeic acid	$Y = 105.4X - 158.1$	0.9991	1.0 ~ 100.0	0.2	0.6
表没食子儿茶素没食子酸酯 Epigallocatechin gallate	$Y = 11.3X - 8.7$	0.9987	2.0 ~ 200.0	0.4	1.0
槲皮素-3-O-桑布双糖苷 Quercetin-3-O-sambubioside	$Y = 12.1X - 3.2$	0.9996	1.0 ~ 100.0	0.3	0.5
芦丁 Rutin	$Y = 43.1X + 26.8$	0.9992	0.1 ~ 50.0	0.04	0.07
异槲皮苷 Isoquercitrin	$Y = 13.8X - 11.5$	0.9997	1.0 ~ 100.0	0.2	0.5

表 3 各抗氧化活性成分的日内紧密度、日间紧密度和含量测定

Table 3 The intra-day precision, inter-day precision, and contents of antioxidants

化合物 Compounds	日内精密度 Intra-day precision (RSD, %, n = 5)	日间精密度 Inter-day precision (RSD, %, n = 3)	含量 Contents (mg/g)
没食子酸 Gallic acid	1.3	8.4	0.47 ± 0.06
新绿原酸 Neochlorogenic acid	0.8	6.9	0.25 ± 0.08
原儿茶酸 Protocatechuic acid	3.9	6.3	0.29 ± 0.03
绿原酸 Chlorogenic acid	6.4	11.7	2.81 ± 0.16
咖啡酸 Caffeic acid	4.6	7.6	0.17 ± 0.02
表没食子儿茶素没食子酸酯 Epigallocatechin gallate	5.8	8.9	0.43 ± 0.06
槲皮素-3-O-桑布双糖苷 Quercetin-3-O-sambubioside	2.4	11.5	0.69 ± 0.05
芦丁 Rutin	5.2	9.5	0.35 ± 0.03
异槲皮苷 Isoquercitrin	5.5	9.4	1.45 ± 0.09

### 3 结论

杜仲黑茶是基于杜仲叶开发的新产品,目前未见杜仲黑茶的抗氧化活性和成分的相关报道。实验研究表明杜仲黑茶 75% 乙醇提取物具有较强的 DPPH 自由基清除活性,IC<sub>50</sub> 值为  $17.0 \pm 2.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。建立了 DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS 方法筛选和鉴定了杜仲黑茶中的 9 种抗氧化活性成分:5 个酚酸类(没食子酸、新绿原酸、原儿茶酸、绿原酸和咖啡酸),4 个黄酮类(表没食子儿茶素没食子酸酯、槲皮素-3-O-桑布双糖苷、芦丁和异槲皮苷)化合物。DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS 方法简便、快速、灵敏、准确,无需分离纯化,可实现食品、天然产物等复杂体系中的抗氧化活性成分的分析鉴定。

建立了 HPLC 方法实现 9 种抗氧化活性成分的同时含量测定,经方法学考察,建立的方法简便可行、准确度高、灵敏度好,为杜仲黑茶抗氧化功能的质量评价提供指标。杜仲黑茶以杜仲叶和茶叶以 8:2(m/m)混合,根据黑茶的加工工艺制备而成,多酚类化合物在渥堆发酵过程中易发生酶促反应从而使含量降低。槲皮素-3-O-桑布双糖苷、芦丁和异槲皮苷来源于杜仲叶,没食子酸、原儿茶酸和表没食子儿茶素没食子酸酯来源于茶叶,新绿原酸、绿原酸和咖啡酸两者均有贡献,与文献对比,抗氧化活性成分含量降低,同时还存在一些多酚类化合物的消失<sup>[3,11]</sup>。研究结果为杜仲黑茶的广泛推广提供了科学依据。

### 参考文献

- 1 You TH(游庭活), Wen L(温露), Liu F(刘凡). Recent advances on active substances of antiaging and its mechanisms[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2015, 27:1985-1990.
- 2 Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the people's republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部)*[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015:241.

- 3 Dai XP, Huang Q, Zhou BT, et al. Preparative isolation and purification of seven main antioxidants from *Eucommia ulmoides* Oliv. (杜仲) leaves using HSCCC guided by DPPH-HPLC experiment [J]. *Food Chem*, 2013, 139: 563-570.
- 4 Bai MM, Shi W, Tian JM, et al. Soluble epoxide hydrolase inhibitory and anti-inflammatory components from the leaves of *Eucommia ulmoides* Oliver (Duzhong) [J]. *J Agr Food Chem*, 2015, 6:2198-2205.
- 5 Zhang Y, Zhang H, Wang F, et al. The ethanol extract of *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves inhibits disaccharidase and glucose transport[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 163:99-105.
- 6 Zhou JR(周继荣), Zang ZH(臧中华), Ni DJ(倪德江). Study on quality changes of Du-zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) tea with different processing techniques [J]. *Hubei Agr Sci*(湖北农业科学), 2008, 47:334-337.
- 7 Zhang YP, Shi SY, Xiong X, et al. Comparative evaluation of three methods based on high-performance liquid chromatography analysis combined with a 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay for the rapid screening of antioxidants from *Pueraria lobata* flowers [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 402:2965-2976.
- 8 Liu MY(刘明钰), Li M(李敏), Chen JJ(陈娟娟), et al. Evaluation of antioxidant activity of flaxseed extracts by 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl-high performance liquid chromatography assay[J]. *Chin J Anal Chem*(分析化学), 2015, 43:245-250.
- 9 Gao QP, Ma RY, Chen L, et al. Antioxidant profiling of vine tea(*Ampelopsis grossedentata*): off-line coupling heart-cutting HSCCC with HPLC-DAD-QTOF-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2017, 225:55-61.
- 10 Liang HQ(梁寒峭), Zhang L(张露), Cheng C(程池), et al. Chmical constituents of Noni(*Morinda citrifolia*) fermented juice and antioxidative activities[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2018, 30:795-799.
- 11 Zhang Q(张琪), Xu WL(徐维玲), Li CQ(李翠芹). Simultaneous determination of some selected catechins and caffeine in tea by performance liquid chromatography [J]. *Sci Technol Food Ind*(食品工业科技), 2015, 36:53-56.