

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Кубанский государственный университет»

На правах рукописи



Гущаева Кристина Сергеевна

УСТАНОВЛЕНИЕ РЕГИОНА ПРОИЗРАСТАНИЯ ЧЕРНОГО ЧАЯ
ПО ЕГО КОМПОНЕНТНОМУ СОСТАВУ

1.4.2 - Аналитическая химия (химические науки)

Научный руководитель:

Цюпка Татьяна Григорьевна

доктор химических наук, профессор

Краснодар
2023

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
1 Аналитический обзор.....	9
1.1 Технология производства чая. Химический состав чая	9
1.1.1 Технология производства чая.....	9
1.1.2 Органические компоненты чайного листа и чая	13
1.1.3 Формирование минерального состава чая.....	16
1.2 Методы исследования индивидуальных компонентов чая	19
1.2.1 Применение метода ВЭЖХ для анализа фенольных веществ в чае.....	20
1.2.2 Применение метода капиллярного электрофореза для анализа фенольных веществ в чае.....	23
1.2.3 Методы исследования минерального состава чая	27
1.3 Методы исследования суммарного содержания фенольных антиоксидантов	31
1.4 Хемометрические методы оценки качества чая	36
1.5 Выводы к аналитическому обзору	43
2 Экспериментальная часть.....	45
2.1 Материалы, реактивы и используемое оборудование.....	45
2.2 Объекты исследования.....	47
2.3 Определение кофеина, катехинов и галловой кислоты в чае методом МЭКХ.....	48
2.4 Определение суммарного содержания фенольных антиоксидантов.....	52
2.5 Определение металлов в чае и почве методом ИСП-АЭС.....	53
3 Результаты и их обсуждение.....	56
3.1 Оптимизация условий определения кофеина, катехинов и галловой кислоты в черном чае методом МЭКХ.....	57
3.2 Изучение компонентного состава чая, выращенного в условиях Краснодарского края.....	68
3.3 Исследования взаимосвязи характеристик черного чая различного региона произрастания	78

3.4 Подходы к установлению региональной принадлежности черного чая	84
Заключение.....	104
Список использованных источников.....	106
Приложение А.....	130
Приложение Б.....	131

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Взаимосвязь отдельных компонентов химического состава пищевых продуктов, возможность изменения содержания и соотношения минорных компонентов в зависимости от места произрастания используемого растительного сырья и технологии производства позволяют разрабатывать подходы к идентификации подлинности пищевых продуктов. Одним из подходов является разработка верификационных моделей пищевых продуктов на основе растительного сырья. Под верификационной моделью подразумевается статистически обоснованная модель, представленная в виде математической зависимости, визуального профиля или иной формы, разработанная с использованием образцов продукции, обладающих необходимыми и/или доказанными характеристиками качества от известного производителя.

При классификации вкусовой продукции, в частности чая, наиболее часто используются модели, полученные на основе статистической обработки массива данных неорганического состава продукта, сформированного по результатам многоэлементного анализа методами ИСП-МС или ИСП-АЭС, и с применением различных хемометрических процедур. Такая классификация может базироваться на установлении связи между содержанием металлов в чайном листе и почве, на которой произрастало растение. В этих случаях часто в качестве объектов анализа выбираются образцы «чистого» – не купажированного чая с известными или контролируемыми характеристиками по сорту и региону произрастания чайного растения, а также рассматриваются климатические и почвенные особенности возделывания культуры, технологические приемы переработки чайного листа. Однако ограниченное количество доступных образцов чайного листа и соответствующих почв затрудняет проведение такой классификации. Несколько реже классификацию проводят с использованием характерных для продукта компонентов

органической природы. В этом случае установление связи между компонентами растения и почвы не требуется.

При реализации региональной политики в области чаеводства предусматривается осуществление мониторинга качества чая с наименованием "Краснодарский чай", который необходимо проводить в нескольких направлениях. Оценка качества чая, установление его региональной принадлежности и факта возможной фальсификации с использованием ограниченного числа предусмотренных нормативными документами показателей не эффективно. Для достижения этих целей недостаточно разработаны подходы к выбору веществ-маркеров, позволяющих отнести анализируемый чай к региону произрастания, требуется расширение методической базы мониторинга доступными, экспрессными методиками, обеспечивающими определение аналитов на требуемом концентрационном уровне с удовлетворительной погрешностью.

Исследование выполнено при финансовой поддержке проектов РФФИ 17-03-01254, 19-43-230010 с использованием научного оборудования ЦКП "Эколого-аналитический центр" Кубанского госуниверситета. уникальный идентификатор RFMEFI59317X0008.

Цель данной диссертационной работы - разработка подходов к установлению региональной принадлежности черного чая на основе особенностей его компонентного состава (на примере краснодарского чая).

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

1. Изучение катехинового состава и железовосстанавливающей способности черного чая различных регионов произрастания и взаимосвязи между этими характеристиками.

2. Установление особенностей минерального состава краснодарского чая с использованием системы «почва – физиологически зрелый лист – флеш».

Выявление компонентов, содержания которых значительно различаются для чая I, III и IV микрозон чайных плантаций Краснодарского края.

3. Обоснование и построение модели классификации черного чая по региональной принадлежности на основе его концентрационного профиля.

4. Обоснование и построение модели классификации черного чая по региональной принадлежности на основе его электрофоретического профиля.

Научная новизна результатов исследования.

Разработан подход к установлению региональной принадлежности черного чая на основе совокупности отношений площадей характеристических пиков электрофореграмм, полученных в условиях мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ). Показана возможность классификации черного чая для групп китайского, кенийского, индийского, ассамского, цейлонского и краснодарского происхождения на основе отношений площадей характеристических пиков катехинов: $S_{ГКТ}/S_{КТ}$, $S_{КТ}/S_{ГКГ}$, $S_{КТ}/S_{ЭКГ}$, $S_{ЭКГ}/S_{ГКГ}$, $S_{ГКГ}/S_{ЭКГ}$.

Предложены модели классификации черного чая по региональной принадлежности на основе концентрационного профиля с использованием значимых дескрипторов – содержания кофеина, катехинов и галловой кислоты (модель 1); содержания Al, Fe, Ba, Na, Ti, Cr, Pb, Li (модель 2) и содержания Sr, Cr, Mo, Mg, Cd, Ti, Li, Ba, Ni, Ca, Mn, ГКТ, ГКГ, КТ и ЖВС (модель 3).

Практическая значимость работы.

Оптимизирована методика одновременного определения галлокатехина, катехина, эпигаллокатехина, эпигаллокатехин галлата, эпикатехина, галлокатехин галлата и эпикатехин галлата в чае методом МЭКХ и проведена ее метрологическая оценка. Показатель точности определения аналитов составляет от 12% (для Кф) до 24% (для ЭКТ), в динамическом диапазоне измерений 1,3-2,3.

Предложен алгоритм скрининг-определения региональной принадлежности черного чая с использованием установленных диапазонов величин отношений площадей характеристических пиков электрофореграмм: $S_{\text{кф}}/S_{\text{кт}}$, $S_{\text{кф}}/S_{\text{экт}}$, $S_{\text{эгкг}}/S_{\text{экг}}$ – для китайского, $S_{\text{гкт}}/S_{\text{кт}}$, $S_{\text{гкт}}/S_{\text{экг}}$, $S_{\text{кт}}/S_{\text{гкг}}$ – кенийского, $S_{\text{кф}}/S_{\text{гк}}$, $S_{\text{эгк}}/S_{\text{экг}}$, $S_{\text{гк}}/S_{\text{экг}}$ – краснодарского чая.

Установлена высокая аккумуляция K, Ca, Mn и Sr во флешах и физиологически зрелом листе чайного растения, выращенном на территории Краснодарского края. На основе коэффициентов биоаккумуляции показано, что во флешах характерно накопление K, Zn, Mg, Co, Ni, Mo и Ca, Mn, Sr, Ba, Cu, Pb, Al, Ti, Cr, Fe в физиологически зрелом листе.

Положения, выносимые на защиту:

Оптимизация условий одновременного определения катехинов (галлокатехина, катехина, эпигаллокатехина, эпигаллокатехин галлата, эпикатехина, галлокатехин галлата и эпикатехин галлата), кофеина и галловой кислоты в чае методом мицеллярной электрокинетической хроматографии.

Выявление закономерностей распределения минеральных компонентов в связанной системе «почва: физиологически зрелый лист: флеш» (на примере чая, выращенного в условиях Краснодарского края).

Подходы к классификации черного чая по региональной принадлежности на основе его концентрационного и электрофоретического профилей.

Публикации. По результатам проведенных исследований опубликованы 5 статей, из которых 3 включены в рекомендованные ВАК РФ рецензируемые научные издания, а также 6 тезисов докладов в материалах международных конференций.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы обсуждены на III Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» с международным участием (Краснодар, 2017 г.), V Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием (Краснодар, 2018 г.), II

Всероссийской конференции по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодар, 2015 г.), V-VI республиканской конференции по аналитической химии с международным участием (Минск, 2017г.), X международном симпозиуме «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты (Москва, 2018г), IV Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» с международным участием (Краснодар, 2020 г.).

Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Достоверность полученных результатов, научных положений и выводов, содержащихся в работе, подтверждается использованием современных методов исследования, применением аттестованных стандартных образцов и согласованностью литературных и экспериментальных данных.

Личный вклад автора заключался в поиске, систематизации и анализе данных по поставленным задачам исследования, определении методов решения, планировании и проведении экспериментов, в анализе, обработке и интерпретации полученных данных. Постановка задач, обсуждение полученных результатов и подготовка публикаций по результатам исследования выполнены совместно с научным руководителем.

1 Аналитический обзор

1.1 Технология производства чая. Химический состав чая

1.1.1 Технология производства чая

Чай – это пищевой продукт, изготовленный из чайных листьев и черешков принадлежащих различным видам растения рода *Camellia* семейства *Theaceae*, не содержащий других компонентов [1]. Род *Camellia* подразделяется на *C. Sinensis var. Sinensis* (китайский тип), наиболее широко распространенный вид в Китае и мире, и *C. Sinensis var. Assamica* (тип Ассам), названный в честь региона Ассам в Индии, где он был впервые выращен, и который имеет гораздо более крупные листья, чем китайский тип [2]. Так же существует четыре климатические разновидности этого растения, отличающиеся анатомо–морфологическими признаками и химическим составом чайного листа – китайская, японская, индийская и индокитайская [3].

Качество чая, как и любого другого пищевого продукта растительного происхождения, зависит в первую очередь от качества сырья и рационального применения технологических процессов. В зависимости от технологической обработки свежего чайного листа и глубины протекания ферментативных процессов, байховый чай подразделяют на три основных вида – зеленый, улун (оолонг) и черный [4].

Зеленый чай, является неферментированным (степень ферментации 2–3%), его получают, проводя инактивацию ферментов тепловым воздействием. В процессе термической обработки снижается содержание танина, экстрактивных веществ, свободных аминокислот и зеленых пигментов, а количество летучих альдегидов и желтых пигментов, наоборот, незначительно возрастает [5].

Чай улун – полуферментированный чай и занимает промежуточное положение между черным и зеленым чаем. В связи с тем, что при изготовлении улун лист подвергается частичной ферментации, завяленный лист слегка скручивают, далее частично сферментированный продукт фиксируют тепловым

воздействием, при котором происходит инактивации ферментов, прекращается окисление фенольных веществ и одновременно усиливаются теплхимические процессы, характерные для производства зеленого чая. В результате лист включает в себя неферментированную середину, почти полностью ферментированные края и зону перехода. Степень ферментации 50-70% [6].

Черный чай – полностью ферментированный продукт, и классическая технология его производства включает в себя сбор, завяливание, скручивание, ферментацию, сушку, сортировку и фасовку.

Содержание компонентов в чае различной степени ферментации представлено в таблице 1.1.

Таблица 1.1– Содержание компонентов в чае различной степени ферментации, мг/г [7]

Вещество	Зеленый	Улун	Черный
Катехины	60-150	50-70	10-20
Теафлавины	1	3-10	5-15
Теарубигины	10	40-110	60-150
Теанин	15-20	10-20	8-14
Сахара	20-30	20-40	20-40
Кофеин	30-40	30-40	30-40
Минеральные вещества	60	60	60
Хлорофилл	1-5	0,3-2	0,1-0,2
Летучие соединения	0,2-0,5	0,2-0,5	0,1-0,3
Аминокислоты	30-40	30-35	25-35
Пептиды и белки	130-170	130-160	130-160
Органические кислоты	10-15	18-25	10-20

Для производства чая собирают флешы – молодые побеги, содержащие 2-3 листа и нераспустившуюся почку – типс. Так же могут быть использованы 4 и более листьев чайного растения, однако качество напитка при этом ухудшается – чем ниже на чайном растении расположен лист, тем меньше в его составе

водорастворимых веществ, а, следовательно, тем скуднее вкус и аромат готового чая [3,7].

Так авторами в работе [8] показано, что молодые листья (верхушечная почка и два самых молодых листа) содержат больше кофеина, эпигаллокатехин галлата, эпигаллокатехина и эпикатехин галлата, чем старые листья (с 5-го по 7-й листья) (таблица 1.2).

Таблица 1.2 – Содержание компонентов в свежих чайных листьях, мг/г [8]

Вещество	Содержание компонентов в свежих чайных листьях, мг/г						
	почка	1 лист	2 лист	3 лист	5 лист	7 лист	9 лист
Кофеин	41,7	49,7	45,5	40,0	27,6	27,2	26,6
Катехин	3,0	5,1	6,5	5,5	3,3	3,4	2,8
Эпигаллокатехин	2,3	4,1	4,0	2,7	4,1	7,1	6,2
Эпигаллокатехин галлат	29,4	27,1	21,0	11,6	8,0	10,5	9,3
Эпикатехин	0,06	1,3	1,6	0,5	0,1	1,3	0,9
Эпикатехин галлат	5,2	5,7	4,9	2,9	1,1	1,1	0,8

Чайные листья собирают вручную или механически, затем их завяливают. В процессе завяливания происходит формирование пластичности и мягкости листа, снижается влажность до 60-70% [7].

При завяливании происходит распад белков на аминокислоты, возрастает содержание кофеина, увеличивается содержание клеточного сока и активность катехолоксидазы и фенолоксидазы, участвующих в ферментации [9].

Скручивание осуществляют раздавливанием тканей чайного листа в роллерах. В результате разрушения ткани листа содержимое клеток смешивается и начинает контактировать с ферментами. Наступает первая фаза ферментации [9,10].

Ферментация – это процесс окисления компонентов клеточного сока чайного листа под воздействием различных факторов. Процесс окисления является экзотермическим с выделением углекислого газа и воды. В результате окислительных превращений катехинов образуются теафлавины, теарубигины

и их галлаты – медно-красные и коричневые пигменты, обуславливающие цвет и вкус чайного настоя. Образуются также альдегиды, спирты, эфирные масла, обуславливающие аромат чая. После окончания скручивания, процесс ферментации продолжается во второй фазе, при которой листовую массу выдерживают в течение 2-5 часов при высокой влажности. Длительная ферментация в течение 4-5 часов дает нежный чай яркого цвета, который, однако, содержит небольшое количество экстрактивных веществ, катехинов и дубильных веществ. Ферментация в течение 2-3 часов дает вяжущий крепкий чай с красноватым цветом [10-13].

Далее чай подвергается сушке, на этой стадии прекращается процесс ферментации и удаляется излишняя влага. Происходит фиксация основных компонентов сформированных на предыдущих процессах. Улетучивается до 80 % эфирных масел сферментированного чайного листа, но образуются новые летучие ароматические соединения, обуславливающие аромат готового чая [10].

Конечной стадией производства чая является его сортировка. Отделяют листовые и ломаные чаи, убирают высебки и чайные крошки, для этого используют различные сита для разделения чая по размерам чаинок. Рассортированные чаи отправляют на фабрики, где путем их купажирования производят торговые сорта черного чая [3].

Технологии производства чая, оказывает большое влияние на качество чая, однако, при прочих равных условиях химический состав и биохимические свойства сырья определяют химический состав и качество готового продукта [14-17].

Далее рассмотрены биохимические процессы, протекающие в чайном листе в процессе его переработки формирующие состав готового чая.

1.1.2 Органические компоненты чайного листа и чая

С точки зрения потребления человеком чай представляет собой основной источник фенольных соединений. Фенольные вещества составляют от 30 до 40% сухих веществ экстракта и обеспечивают терпкость чайного напитка. Благодаря обилию полифенолов, присутствующих в чайных листьях и напитках, химия чая часто считается синонимом химии полифенолов чая. Катехины составляют основную часть полифенолов свежего чайного листа и зеленого чая. Большой процент катехинов, присутствующих в чае, существует в виде сложных эфиров галловой кислоты. Четырьмя наиболее распространенными катехинами являются галлат эпигаллокатехина, эпигаллокатехин, галлат эпикатехина и эпикатехин. Также присутствуют в меньших количествах катехин и галлокатехин которые являются продуктами рацемизации, а не «родными» для чайного растения [18].

Структурные формулы основных катехинов чая изображены на рисунке 1.1.



Рисунок 1.1 – Структурные формулы катехинов чая

При производстве черного чая катехины являются основой для получения полифенолов черного чая. Некоторые катехины свежего листа выдерживают процесс ферментации и обнаруживаются в черном чае [19].

Предполагается, что из-за реакций окисления и термических условий, которым подвергается чайный лист при производстве черного чая, некоторые из катехинов также эимеризуются и/или дегаллируются, что объясняет появление свободной галловой кислоты, а также повышенный уровень неэпиизомеров катехинов. Галловая кислота считается продуктом деградации 3-галлозамещенных катехинов и галлокатехинов, и, вероятным путем ее образования является активность нативной эстеразы (танназы) или окислительная дегалляция во время ферментации [20].

Одним из ключевых отличий черного чая от зеленого является образование в процессе ферментации нового типа полифенолов – группы теафлавинов. Теафлавины, образующиеся в результате окислительных превращений катехинов, составляют примерно от 3 до 5% и придают чайному напитку яркий красно-оранжевый цвет. Теафлавиновые кислоты и теафлагаллины образуются в результате окислительной конденсации молекулы галловой кислоты, катехинов и их галлатов, при этом фрагмент карбоксильной кислоты становится уходящей группой и имитирует катехиновую группу в механизме образования теафлавина. Изотеафлавины и неотеафлавины образуются по тому же механизму, за исключением того, что они возникают частично из неэпиформных пар катехинов. Содержание неэпиформ катехинов в свежем чайном листе невелико, поэтому эти компоненты в черном чае присутствуют в значительно меньшей концентрации по сравнению с теафлавинами [18].

Коричнево-красные оттенки черного чая обусловлены присутствием теарубигинов. Содержание теафлавинов и теарубигинов в чае является показателем его качества – соотношение данных компонентов в чае должно

быть не выше 1:16, а равное 1:10, свидетельствует о высшем качестве продукта [21].

Большинство флавонолов, как свободных, (кемпферол, кверцитин и мирицитин) так и гликозидов, присутствующих в свежем листе, остаются неокисленными, и содержатся в черном чае в неизменном количествах [22].

Чай исторически ценится за содержание кофеина, который рассматривается как важная составляющая чая, придающая настроение и улучшающая когнитивные функции. Свежие чайные листья содержат от 2 до 4% кофеина и в незначительном количестве теобромин и теофиллин. В процессе обработки чайного листа алкалоиды подвергаются минимальным изменениям. Однако в процессе заваривания черного чая, кофеин вступает в реакцию с танинами, катехинами, теафлавин галлатами, полисахаридами, белками и некоторыми другими соединениями, образуя комплекс таннат кофеина – вещества, обладающего приятным, без горечи, вкусом. Помутнение остывшего чайного настоя (образование «сливок»), вызванное таннатом кофеина, является важным показателем качества черного чая [23].

Важную роль в образовании аромата чая играют эфирные масла, представляющие смесь различных органических соединений: углеводов, альдегидов, кетонов, спиртов, кислот, фенолов и др. В чайном растении наибольшее количество эфирных масел содержится в почке, первом и втором листьях. Содержание эфирных масел в чайном листе резко увеличивается при его завяливании и особенно при скручивании и несколько снижается в полуфабрикате, оставаясь в то же время гораздо высоким по сравнению со свежим листом [7].

Свободные аминокислоты в свежем чайном листе представлены аланином, глютаминовой и аспарагиновой кислотами, валином, лизином, серином и аргинином, а в процессе завяливания к ним прибавляются фенилаланин и лейцин. На этапе сушки, в процессе производства чая, сахара

чайного листа, взаимодействуя с аминокислотами, образуют альдегиды, участвующие в формировании аромата [24].

Химический состав свежего чайного листа может зависеть от сорта растения и агротехнических и природных условий выращивания чая. Авторами в работе [25] показано влияние времени сбора чайных листьев на химический состав селекционных образцов зеленого чая, выращенно в пос. Уч-Дере, г. Сочи.

Таким образом, содержания полифенолов и других компонентов, в составе чая, зависят от сорта, климатических и агротехнических выращивания чайного листа, а так же технологии производства продукта. Сведения о содержании кофеина и катехинов в чае, выращенном на территории черноморского побережья Краснодарского края малочисленны. Эта информация необходима для установления возможной фальсификации региона произрастания и проведения мониторинга качества Краснодарского чая.

1.1.3 Формирование минерального состава чая

Помимо полифенолов, чай считается богатым источником минеральных веществ. В состав минеральных веществ входят макроэлементы К, Mg, Ca, P, S и микроэлементы, такие как Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Ni, Cr, Cl, Br и др. [26].

Содержание элементов в чайных листьях зависит от нескольких факторов, таких как географическое положение, то есть регион произрастания растения, применяемые агротехнические мероприятия, система удобрения почв и индустриализация района вблизи чайных плантаций.

Основным источником минеральных элементов для чайного растения является их почва корнеобитаемого слоя. Степень, в которой корни растения поглощают элементы, связана с концентрацией этих элементов в почвах, а так

же их физико-химическими формами и связью с другими компонентами почвы [27].

Ряд исследований показал, что кислотность почв чайных плантаций возрастает с увеличением длительности культивирования чайных растений и связано с внесением азотных удобрений, выщелачиванием и истощением основных катионов в почвах, секрецией органических кислот корнями и разложением опада чайных растений. Это способствует повышению концентрации биодоступных металлов и увеличивает их поглощение корнями чайного растения [28-31]

В связи, с чем накопление потенциально токсичных элементов и микроэлементов вызывает беспокойство, как у производителей, так и у потребителей чая и является важным показателем для оценки его качества [32].

Оценку накопления металлов чайным растением, проводят посредством расчета отношения содержания конкретного металла в чайном листе к содержанию в образце почвы на котром произрастает чайное растение. Данная характеристика в различных источниках именуется как фактор накопления, коэффициент биоаккумуляции или фактор биоконцентрации (таблица 1.3).

Так, исследование образцов почвы и чая из провинции Аньхой в Китае, показали, что содержание органического вещества и окислительно-восстановительные процессы почвы влияли на распределение и перенос As, Pb, Cd и Hg в почве и чае. В то время как для Cr, Cu, Ni и Zn распределение в основном связано с рН почвы и содержанием оксидов железа [33].

В работе [34] показано накопление Mn в чайных листьях провинции Гуйчжоу. Отмечено, что фактор переноса Ni для молодых чайных листьев был больше, чем для старых, в то время как для Cd, Pb, Tl, Hg, As, Sb, Cr и Mn наблюдалась обратная ситуация.

Таблица 1.3 – Примеры оценки накопления металлов чайным растением

Характеристика	Пробоподготовка	Метод	Источник
Фактор переноса	Для образцов почвы и чая применяли микроволновое разложение с использованием смеси концентрированных кислот HCl, HNO ₃ , HClO ₄ и HF при 180°C	ИСП-АЭС, ИСП-МС	33
Коэффициент биоаккумуляции	Образцы почвы подвергались двум вариантам кислотной минерализации, в первом случае в качестве окислителя использовали смесь концентрированных кислот HClO ₄ :HNO ₃ :HF:HCl в соотношении 1:2,5:2:2 (T= 190°C, t = 48 ч) с последующим выпариваем при температуре 150°C; во-втором, в качестве окислителя использовали смесь концентрированных кислот HNO ₃ и HCl в соотношении 1:3 2 (T= 190°C, t=48 ч) с последующим выпариваем при температуре 150°C; Для образцов чая применялась кислотная минерализация в качестве окислителя использовали концентрированную азотную кислоту (комнатная температура, t=8ч) с последующим выпариваем при температуре 150°C.	ИСП-МС	34
Коэффициент переноса элемента	Высушивание с последующим облучением в потоке нейтронов	НАА	35
Фактор биоконцентрации	Образцы почвы подвергались кислотной минерализации, в качестве окислителя использовали смесь концентрированных кислот HNO ₃ : HF: HCl в соотношении 6:2:2. А для чайных листьев в качестве окислителя использовали концентрированную азотную кислоту.	ИСП-МС	36

В. Wen с соавторами рассмотрена взаимосвязь между тяжелыми металлами в чайных листьях и почве на чайных плантациях Китая. Обнаружена корреляция между содержанием Mn и Cr в чайных листьях и в почве, а так же снижение содержания Zn, Ni, Mn и Cu в чайных листьях, при увеличении pH почвы [37].

Проведенные в Эфиопии исследования показали накопление в листьях K и Mn. Наиболее распространенным металлом среди макроэлементов был калий, за которым следовали магний и кальций. Содержание марганца в чайных листьях было преобладающим среди микронутриентов, за которыми следуют Na, Fe, Zn, Cu и Co [38].

В исследовании [39] показано, что повышенное содержание Mg, Ca и Na в почве чайных плантаций Китая снижало содержание K в чайных листьях.

Поступление Al, Cr, Cu, Pb и Zn может также происходить на разных стадиях производства чая. Например, при соприкосновении чайных листьев с металлическими поверхностями роллеров в процессе скручивания; на стадии фиксации при контакте с медными плитами или в процессе ферментации при выдерживании в емкостях [40].

1.2 Методы исследования индивидуальных компонентов чая

В настоящее время широко используемыми в анализе состава чая являются хроматографические и электрофоретические методы, позволяющие определить практически все органические компоненты напитка:

- Капиллярный электрофорез – фенольные соединения, алкалоиды, аминокислоты, органические кислоты, катионы [8,41-45]
- Газовая хроматография – летучие органические вещества, определяющие аромат [46-48]

- ВЭЖХ – фенольные соединения, алкалоиды, аминокислоты, углеводы [49-54]

Содержание минеральных веществ в чае определяют различными физико-химическими методами: атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС) [55-57], атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-АЭС) [58,59], масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) [60,61], нейтронно-активационный анализ [62,63], вольтамперометрия [64,65], рентгенофлуоресцентный анализ [26,66] и ионная хроматография [67].

1.2.1 Применение метода ВЭЖХ для анализа фенольных веществ в чае

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, особенно его обращено-фазовый вариант, широко применяется для определения катехинов в различных образцах чая. Хроматографическому анализу предшествует стадия экстрагирования в водную или в водно-органическую среду. В роли органического растворителя, как правило, используют ацетонитрил или муравьиную кислоту. Разделение катехинов осуществляется в колонке с привитыми алкильными группами С18, а подвижной фазой ацетонитрил-вода с различными органическими добавками, такими как муравьиная, уксусная кислоты, или метанол. Также встречается применение фосфатных буферов. Применяются различные способы детектирования: УФ и диодно-матричный детектор [68,69], электрохимический детектор [70], масс-спектрометрия [71,72].

Обзор некоторых вариантов анализа чая методом ВЭЖХ представлен в таблице 1.4.

Таблица 1.4 – Определение катехинов методом ВЭЖХ

Аналит	Колонка	Подвижная фаза	Детектирование	Источник
Кт, ЭКт, Кф, ГК	Luna 5uС18(2) (250×4.6мм, 100А)	ацетонитрил/уксусная кислота /ЭДТА; градиентное элюирование	УФ $\lambda=278$ нм	[68]
Кт, ЭКт, Кф, ГК	Luna C18(2) (250×2 мм, 5мкм)	ацетонитрил/фосфатный буфер (рН=3); градиентное элюирование	ДМД, КТ и ЭКТ $\lambda=210$, Кф и ГК $\lambda=270$	[73]
ЭГК, ЭКГ, ЭКт, ЭГКГ, Кф	Reprosil– Pur NH2 (150×4.6 мм, 3мкм)	17% ацетонитрил в 0,5%–ном водном растворе фосфорной кислоты	УФ $\lambda=205$ и 370нм	[74]
ЭГК, Кт, ЭКт, ЭКГ ЭГКГ,	Optimapark OP C18 (250×4.6 мм, 5мкм)	вода/ацетонитрил (90/10); градиентное элюирование	УФ $\lambda=280$ нм	[75]
ЭГКГ, ЭКГ, ЭГК, ЭКт	Zolbax Eclipse C18 (300×0,256 мм)	5 мМ ацетат аммония, 0,05% трифторуксусная кислота/ 40% ацетонитрил, 60% метанол; градиентное элюирование	$[M+H]^+$ ионы, МС, ESI	[76]
ЭГКГ, ЭКГ, ЭГК, ЭКт	Waters C18 (250×2.0 мм)	30% метанол, 0,05 % трифторуксусная кислота	$[M+H]^+$ ионы, МС–МС, CID	[77]

В работе [73] определяли содержания Кт, ЭКт, Кф и ГК в образцах черного чая различного происхождения. Разработана методика ВЭЖХ–ДМД определения данных компонентов в режиме градиентного элюирования, а так же установлено, что содержания ЭКт и Кт чайных экстрактов сильно изменяются в образцах различного происхождения. Авторы предполагают возможность оценки качества чая по содержанию ЭКт или Кт.

Шафигулин Р. В. и др. [75] исследовали ЭГК, Кт, ЭКт, ЭГКГ, ЭКГ, содержащиеся в зеленом чае. Анализ продукта проводили методом обращено–фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографией (ОФ

ВЭЖХ). Разработку методики разделения аналитов проводили в изократическом и градиентном режимах. Оптимальное разделение смеси флавоноидов достигнуто в градиентном режиме при линейном увеличении концентрации ацетонитрила с 10% до 30% в течение 30 минут.

С помощью разработанной методики [75] были исследованы различные сорта чая и установлено, что во время фабричной переработки чайного листа содержание катехинов снижается, а наиболее богат катехинами зеленый чай [78,79].

В образцах зеленого и черного чая исследовали семь катехинов (ГКт, ЭГК, Кт, ЭГКГ, ЭКт, ГКГ, ЭКГ), галловую кислоту и кофеин, Обнаружены существенные различия в качественном и количественном содержании катехинов в черном и зеленом чаях. Авторами показано, что маркерами качества экстракта зеленого чая может служить присутствие ЭГКГ и ЭКГ, так как они являются наиболее распространенными катехинами в зеленом чае и демонстрируют самую высокую антиоксидантную активность [80].

Восемь различных катехинов, кофеин и теобромин были разделены в условиях ОФ ВЭЖХ–ДМД. Детектирование проводили при длине волны 210 и 280 нм. Система разделения состояла из колонки с привитыми алкильными группами C18, подвижной фазой являлись метанол/вода и ортофосфорная кислота в режиме градиентного элюирования. Было установлено, что содержание катехинов в зеленом чае значительно выше чем в черном [81].

Quansheng Chen и др. [82] исследовали 4 сорта черного и зеленого чая для оценки возможности установления уровня качества чая по содержанию ЭГК, Кт, ЭКт, ЭГКГ, ЭКГ и кофеина. Концентрации исследуемых компонентов были использованы в качестве химических дескрипторов в методе опорных векторов. ВЭЖХ в сочетании с методом опорных векторов показывает отличную производительность в результатах идентификации и может быть применена для установления уровня качества чая.

Разработана методика определения алколоидов и катехинов в настоях чая методом ВЭЖХ с обращением фаз. Исследовано содержание данных

веществ в чаях различного уровня качества, установлена высокая корреляция терпкости напитка с общим содержанием флавонолов [83].

1.2.2 Применение метода капиллярного электрофореза для анализа фенольных веществ в чае

Характерной особенностью структуры молекул катехинов является наличие нескольких гидроксильных групп в бензольном кольце, что позволяет определять их методом зонного капиллярного электрофореза в форме анионов. Для количественного определения индивидуальных компонентов селективности разделения КЗЭ недостаточно, вследствие плохого разрешения пиков [84-86]. Поэтому в настоящее время получила распространение мицеллярная электрокинетическая капиллярная хроматография.

Для разделения катехинов в основном применяют рабочие электролиты со значением рН 6,0–8,0: фосфатные, фосфатно–боратные и боратные буферные растворы. В качестве мицеллообразователя используется додецилсульфат натрия, а различными добавками в составе буфера, влияющими на селективность разделения, могут быть метанол, ацетонитрил, мочевины и β -циклодекстрин. Регистрацию обычно проводят с диодно–матричным или УФ детектором. Пробоподготовка чаще всего заключается в экстракции компонентов чайного листа горячей водой с последующим разбавлением. Обзор некоторых вариантов анализа методом МЭХ представлен в таблице 1.5.

Таблица 1.5 – Определение катехинов методом МЭКХ

Аналит	Параметры капилляра	Время анализа, мин	Ведущий электролит	Детектирование	Источник
Кт, ЭКт, ЭКГ, ЭГК, ЭГК, ГКГ, ГК, Кф	$L_{\text{общ(эф)}}=60(50)$; $d=50\text{мкм}$; $U=25\text{кВ}$; $T=25^{\circ}\text{C}$	14	25 мМ фосфатный буферный раствор (рН 7,0), 15 мМ ДДСН, 10 мМ мочевины	УФ, $\lambda=200\text{нм}$	[87]
		19	10 мМ ацетатно–цитратный буферный раствор (рН 2,0), 120 мМ ДДСН		
Кф, ЭКт, Кт, ЭКГ, ЭГК, ЭГКГ	$L_{\text{общ(эф)}}=80,5(72)$; $d=50\text{мкм}$; $U=27\text{кВ}$	27	25 мМ фосфатный буферный раствор (рН 7,0), 20 мМ ДДСН	УФ, $\lambda=200\text{нм}$	[88]
Кф, ЭКт, Кт, ЭКГ, ЭГК, ЭГКГ, ГКт, ГКГ	$L_{\text{общ(эф)}}=45(35)$; $d=75\text{мкм}$; $U=15\text{кВ}$	10	25 мМ боратный буферный раствор (рН 7,0), 25 мМ ДДСН	УФ, $\lambda=200\text{нм}$	[89]
ЭКт, Кт, ЭКГ, ЭГК, ЭГКГ, ГКт, ГКГ, КГ	$L_{\text{общ(эф)}}=64,5(56)$; $d=50\text{мкм}$; $U=30\text{кВ}$; $T=25^{\circ}\text{C}$	12	Боратно-фосфатный буферный раствор (рН 8,0), 70 мМ ДДСН	УФ, $\lambda=210\text{нм}$	[90]
Кф, ЭКт, ЭГК, КГ, ЭГКГ, ЭКГ	$L_{\text{общ(эф)}}=50(45,4)$; $d=50\text{мкм}$; $U=20\text{кВ}$; $T=25^{\circ}\text{C}$	20	20 мМ натрий–фосфатный буферный раствор (рН 2,7), 100 мМ ДДСН с 10% добавкой метанола	УФ, $\lambda=200\text{нм}$	[91]
Теанин, Кф, Кт, ЭГК, ЭКГ, ЭГКГ, ГК, АК	$L_{\text{общ(эф)}}=57(50)$; $d=50\text{мкм}$; $U=14\text{кВ}$; $T=25^{\circ}\text{C}$	13	25 мМ фосфатный буферный раствор (рН 7,0), 100 мМ ДДСН с 6% добавкой метанола	УФ, $\lambda=200\text{нм}$	[92]
Теанин, теофиллин, теобромин, Кф, ЭКт, ЭКГ, ЭГКГ, ГКт, ГКГ, ГК, АК	$L_{\text{общ(эф)}}=47(38,5)$; $d=50\text{мкм}$; $U=20\text{кВ}$; $T=25^{\circ}\text{C}$	8	10 мМ фосфата, 4 мМ тетрабарата натрия, 45мМ ДДСН (рН 7,0);	ДМД, $\lambda=200, 205, 220, 266, 280\text{нм}$;	[93]
ЭГКГ, ЭГК, ЭКГ, ЭКт, Кт	$L_{\text{общ(эф)}}=50,2(40)$; $d=50\text{мкм}$; $U=30\text{кВ}$; $T=20^{\circ}\text{C}$	4	Фосфатный буфер (рН 2,9), 0,2% триэтиленамина, 0,8% β -циклодекстрина, 50 мМ ДДСН	УФ, $\lambda=210\text{нм}$	[94]

Описана [87] сравнительная оценка методов КЗЭ, МЭКХ и МЭЭКХ при определении катехинов и кофеина в чае. Показано, что для одновременного экспрессного определения наиболее эффективен вариант МЭКХ с обращенной полярностью. Предел обнаружения катехинов составил 1 мг/л.

В работе [88] изучено содержание кофеина и катехинов в зеленом чае «Matcha», экстрагированных водой и метанолом. Результаты, полученные для водного экстракта, показали, что концентрация ЭГКГ в данном сорте чая в 137 раз выше, чем в китайском зеленом чае, и в три раза выше, чем опубликовано в литературе для других сортов чая.

Тайваньские ученые провели количественную оценку уровня катехинов в зеленом чае при различных способах заваривания. Варьировалось время и температура экстракции, а так же растворитель. Результаты показали, что чайный настой, полученный при 95°C, имеет более высокие уровни содержания катехинов, чем чай, заваренный при 80°C. С использованием в качестве экстрагента водопроводной воды содержание ЭГКГ, ЭКт и ЭКГ снизилось, в то время как содержание ГК, Кт и ГКГ увеличилось по сравнению с результатами полученными после экстракции органических компонентов водой, очищенной обратным осмосом [89].

Разработана методика определения основных катехинов, кверцетина и тимола [90]. Варьировали состав и концентрацию фонового электролита, величины приложенного напряжения и температуру. Наилучшее разрешение с самым коротким временем анализа было достигнуто с применением фосфатно–боратного буфера (рН=2) с добавлением 70мМ ДДСН, напряжением 30кВ и температурой 25°C. Апробация методики была проведена на образцах красного, белого, зеленого и черного чая. Результаты показали, что содержание исследуемых антиоксидантов в зеленом чае превосходит их концентрации в других видах чая.

D. Stach и O. Schmitz исследовали стабильность катехинов чайного настоя при хранении. Анализ чайного настоя, выдержанного в течение 5 – 60

минут после заваривания, показал значительное снижение концентрации ЭГКГ и ЭГК до 14 и 21 % соответственно. Содержания ЭКГ и ЭКт не показали значительного изменения, но количество кофеина возрастает до 48%. Авторы предполагают, что увеличение концентрации кофеина связано с его высвобождением из постепенно деградирующего комплекса с полифенолами [91].

Разработана методика [92] для одновременного определения пяти чайных катехинов, теанина, кофеина, галловой и аскорбиновой кислот. При оптимизации условий анализа варьировали состав, концентрацию и значение рН фонового электролита, концентрацию мецеллообразователя и органического модификатора. В качестве внутреннего стандарта использовали Р–нитрофенол. В оптимизированных условиях были исследованы свежие листья чая и чайный настой. Предел обнаружения для всех аналитов находился в диапазоне от 1 до 20 мкг/мл.

Описанная выше методика была доработана с целью определения степени ферментации по содержанию семи катехинов чая, трех ксантинов, галловой кислоты, витамина С, теанина и теафлавинов в чае. Степень ферментации устанавливали оценивая в процентах уменьшение концентрации катехинов чая. Анализ чайных настоев зеленого, черного и чая rouchong показал, что в процессе ферментации содержание теанина и ксантинов изменилось незначительно, концентрация катехинов и витамина С постепенно уменьшается, а продукта гидролиза галлированных катехинов – галловой кислоты, слегка увеличивается [19].

Renato G. Peres и др. [93] разработали методику определения ЭГКГ, ЭГК, Кт, ЭКт методом мицеллярной электрокинетической хроматографии. Применение сульфацированного β -циклодекстрина привело к значительному подавлению электроосмотического потока и, как следствие, быстрой миграции к аноду отрицательно заряженной мицеллы ДДСН. Оптимизированный электролит, состоящий из 0,2% триэтиламина, 50 ммоль/л ДДСН и 0,8 % α - β -циклодекстрина (рН = 2,9), позволил разделить

пять катехинов за 4 мин. Линейный характер градуировочной зависимости сохраняется в диапазоне от 1,25 до 100 мкг/мл. Разработанную методику апробировали на образцах бразильского зеленого чая. Преобладающим компонентом продукта являлся ЭГКГ (23,4–112,4 мкг/мл), следующим ЭГК (18,4–78,9 мкг/мл), ЭКГ (5,6–29,6 мкг/мл), ЭКт (4,6–14,5 мкг/мл) и Кт (3,2–8,2 мкг/мл).

Особый интерес представляют публикации, в которых сравниваются возможности ВЭЖХ и МЭКХ в анализе черного чая (таблица 1.6) [94,95]. Авторы сообщают, что МЭКХ характеризуется рядом преимуществ в эффективности разделения, чувствительности, времени анализа, расходе растворителя, но имеет меньшую воспроизводимость. В настоящее время определение катехинов в чае проводят как методом ВЭЖХ, так и методом МЭКХ, считая их сопоставимыми.

Таблица 1.6 – Определение катехинов в чае методами ВЭЖХ и МЭКХ

Метод	ВЭЖХ – УФ	МЭКХ – УФ	ВЭЖХ –УФ	МЭКХ –УФ
Пробоподготовка	Водная экстракция		Водная экстракция	
t ₀ , мин	87	10	20	4,5
Определяемые компоненты	Кт, КГ, ЭКт, ЭКГ, ЭГК, ГКГ, ЭГКГ, Кф, ГК, А, Тф, КК		ГКт, ГК, ЭГК, Кт, ЭГКГ, ЭКт, ГКГ, ЭКГ	
ПО, мкг/мл	0,05	0,01	0,025–0,385	0,0013–0,0051
Источник	[94]		[95]	

1.2.3 Методы исследования минерального состава чая

Для определения металлов в чае преимущественно используют методы атомно-абсорбционной спектроскопии, атомно–эмиссионной спектроскопии и масс-спектропии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС). Среди методов рентгеновской флуоресценции (РФА) применяются прямая

рентгенофлуоресцентная спектрометрия, энергодисперсионный рентгенофлуоресцентный анализ и РФА полного отражения. Кроме того, металлы в чае определяют с помощью нейтронно-активационного анализа и вольтамперометрии. Методы с использованием ИСП эффективны при многоэлементном анализе чая в широком диапазоне концентраций. Для пробоподготовки образцов чая наиболее часто используются методы мокрого озоления и микроволновой кислотной минерализации. Также встречается, сухое озоление, экстракция аналитов без полного разрушения матрицы или прямой анализ необработанных образцов. Обзор некоторых вариантов определения металлов в чае представлен в таблице 1.7.

Таблица 1.7 – Примеры определения металлов в чае

Метод	Пробоподготовка	Аналит	Источн ик
РФА	Водная экстракция	P, S, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Rb, Sr, Ba и Pb	[96]
ИСП-АЭС ИСП-МС	Кислотная минерализация	Ba, Ca, Ce, Co, Cr, Cu, Fe, K, La, Mg, Mn, Na, Ni, P, Sr и Zn	[97]
ИСП-МС	Микроволновая кислотная минерализация	Al, As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se и Zn	[98]
ИСП-МС	Микроволновая кислотная минерализация	Al, Cr, Mg, Pb, Zn, Ca, Cu, Mn, Se, Cd, Fe, Na, Sr, Co, K и Ni	[99]
ВА	Кислотная минерализация	Cd и Pb, Zn, Cu	[100]
ААС	Водная экстракция	Ca, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Na и Zn	[101]
ААС	Микроволновая кислотная минерализация	Cu, Zn, Ni	[102]
ААС ИСП-АЭС	Микроволновая кислотная минерализация	Ca, Fe, K, Mg, Mn и Na Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr и Zn	[103]
РФА	Кислотная минерализация	Mg, P, S, K, Ca, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Ba, Pb	[104]
РФА	Прямой анализ	Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Ni, Cr, Cl, Br, I, K, Mg, Ca, P, S, Al, Rb, Sr, As, Cd, Sn, Pb, Hg	[59]

Метод	Пробоподготовка	Аналит	Источн ик
НАА	Высушивание с последующим облучением в потоке нейтронов	As, Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Mn, Na, Nd, Rb, Sc, Sm, Th, Yb and Zn	[105]
ААС	Сухое озоление	Cu, Ni, Pb, Cd, Cr, Zn и Mn	[106]

Двадцать два образца чая индийских и американских торговых марок проанализированы на содержание Na, K, Mn, Cu и Br нейтронно-активационным анализом и Mn атомно-абсорбционной спектрометрии. Обнаружено что концентрация Mn в индийском чае находится в диапазоне 371-758 мкг /г, а в чае из США – 79-768 мкг/г со средней концентрацией 575 и 329 мкг/г, соответственно. Также было показано, что концентрации Na и Cu различаются для образцов из Индии и США, а содержание K в образцах исследуемых стран-производителей не имеет значимых различий [62].

Проведена оптимизация пробоподготовки байхового китайского чая для определения свинца, кадмия, хрома, меди и никеля с использованием атомно-абсорбционной спектрометрии. Подобраны температуры пиролиза и атомизации, а так же количество вносимого модификатора – $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ для анализа Pb и Cd и $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ для Cu, Ni и Cr. Результаты, полученные в оптимизированных условиях, показали, что концентрации Pb, Cu и Ni в зеленом чае были намного выше, чем в других типах чая, а содержания Cd, Cr, Cu и Ni в чае улун, были намного ниже, чем в других типах чая [57]

В работе [107] описана оценка эффективности микроволновой кислотной минерализации и мокрого озоления с использованием разбавленных кислот и водного раствора щелочных третичных аминов для извлечения Al, Ca, Mg и Mn из чайного листа. Определение проводили с использованием пламенной атомно-абсорбционной и эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Результаты показали, что в большинстве изученных авторами сред эффективность экстракции снижается в следующем порядке: $\text{Mn} > \text{Ca} > \text{Mg} > \text{Al}$, за исключением экстракции в

водной среде, для которой наблюдалась более высокая эффективность извлечения Mg по сравнению с Ca.

Оценка возможностей метода рентгенофлуоресцентной спектрометрии с полным внешним отражением (РФА ПВО) при определении Mg, P, S, K, Ca, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Ba, Pb в листовом чае и чайных настоях описана в работе [104]. Проведено сравнение двух способов пробоподготовки мокрое озоление в открытой системе и приготовление суспензии. Показано, что пробоподготовка приготовлением суспензий может использоваться при определении Ca, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr и летучих элементов, таких как Cl и Br, для остальных элементов матричные эффекты являются мешающим фактором количественного определения. Однако, лучшие результаты измерений все же достигнуты при использовании кислотной минерализации.

M. Dambies с соавторами проведено определение P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Zn и Al в образцах пакетированного черного чая и в их настое. Определение Ca, K, P и Na проводили с использованием пламенной фотометрии, а Mg, Al, Fe, Mn и Zn атомно-абсорбционной спектрометрией в графитовой печи. Образцы черного чая подвергались кислотной минерализации, чайный настой получали экстракцией горячей водой в соответствии с потребительскими рекомендациями. В листовом чае самым распространенным элементом среди макроэлементов был калий, за ним следовали P, Mg и Ca. Содержание Al было наивысшим в исследованных микроэлементах (Al > Mn > Fe > Zn). Результаты показали, что растворимость Ca и K при потребительском заваривании была самой высокой среди изучаемых элементов. Содержание Fe, было более высоким в образцах байхового чая, по сравнению с напитком [108]

Методом ИСП-МС с предварительной пробоподготовкой способами кислотной минерализацией и водной экстракции проведен анализ образцов 47 байхового чая и травяные сборов из 13 стран и определены Al, As, Cd, Cr и Pb. Показано, что содержание As (0,26 мг/кг), Cd (0,19 мг/кг) и Pb (2,32 мг/кг) в образцах травяных сборов выше, чем в байховом чае. Максимальное

содержание Cr – 31 мг/кг – обнаружено в черном индийском чае, а минимальное – 0,39 мг/кг – в китайском белом чае. Отмечено, что содержание Al в травяных чаях (47–1745 мг/кг) и их настоях (0,09–3,95 мг/л) ниже по сравнению с байховым чаем (50,3–2517 мг/кг) и настоями (0,02–7,51 мг) [109].

Разработана аналитическая схема анализа магния, марганца и цинка в чае с использованием РФА и метода многомерной калибровки без предварительной пробоподготовки образцов. В качестве методик сравнения были использованы методы пламенной атомно-абсорбционной спектрометрии для Ca, Fe, Mg и Mn, пламенной атомно-эмиссионной спектрометрии для K и атомно-абсорбционной спектрометрии для Zn с предварительной минерализацией проб. Спектральная информация, полученная с помощью РФА, и концентрации металлов, найденные с помощью альтернативных методов, были использованы для создания шести моделей PLS для калибровки и вариации разрабатываемой методики. Пределы количественной оценки для этих моделей составляли 614, 134, 761, 140, 85 и 1 мг/кг для Ca, Fe, K, Mg, Mn и Zn соответственно [110].

1.3 Методы исследования суммарного содержания фенольных антиоксидантов

Исследования показали, что продукты растительного происхождения содержат полифенольные соединения, которые обладают кровеостанавливающими, ранозаживляющими, противовоспалительными, бактерицидными свойствами. Человек ежедневно использует их в своем рационе и должен быть уверен, что эти вещества сохранены, пусть и не в полной мере в готовом продукте [111]. Ведь многие пищевые продукты проходят процесс технологической обработки, что приводит если не к полному уничтожению, то к существенному снижению содержания в них биологически активных компонентов, а, следовательно, антиоксидантной

активности, играющей существенную роль в процессе обмена веществ человеческого организма [112].

Содержание биофлавоноидов в растительном сырье – важнейший показатель его биологической ценности. Поэтому суммарное содержание фенольных антиоксидантов может служить дополнительным источником информации о качестве продуктов растительного происхождения, в том числе, одного из самых распространенного напитка в мире – черного чая.

Наиболее экспрессным, простым и доступным методом определения танина является метод Левенталя, основанный на титровании экстрактов чая перманганатом калия в присутствии индигокармина. Однако, при окислении танина чая марганцовокислым калием, также окисляются и конденсированные продукты окисления катехинов и другие фенольные соединения, что является недостатком данного метода [113].

Определение суммарного содержания теафлавинов (ТТС) в чае проводят экстракцией теафлавинов изобутилметилкетонном и последующей реакцией комплексообразования с 2-аминоэтилдифенилборатом (Flavognost). Оптическую плотность образовавшегося зеленого комплекса измеряют спектрофотометрически при 615нм [114].

Для определения суммы полифенолов (ТРС) в чае наиболее часто применяются спектрофотометрические методики, основанные на окислении аналитов в щелочной среде реактивом Фолина-Чокальтеу (ФЧ). Реактив ФЧ содержит сильные окислители – гетерополикомплексы вольфрама(VI) и молибдена(VI), которые реагируют не только с фенольными веществами, но и с другими восстановителями (некоторые углеводы, белки, аминокислоты, тиолы и др.) [115,116].

Методика [117] определения общего содержания флавоноидов в чайных настоях, основанна на реакции флавоноидов с хлоридом алюминия в присутствии нитрита натрия. Оптическую плотность образовавшегося комплекса измеряют при 415 нм. Полученные результаты выражают в пересчете на вещество-стандарт катехин.

Наиболее распространенным способом оценки АОА является методика, основанная на взаимодействии реагента DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил), растворенного в метаноле, с антиоксидантами. В результате восстановления DPPH антиоксидантом пурпурно-синяя окраска раствора DPPH ослабевает, а реакция контролируется по изменению оптической плотности при 514 нм [118].

Метод TEAC основан на измерении обесцвечивания окраски долгоживущего катион-радикала ABTS^{•+} голубого цвета при воздействии антиоксиданта [119]. Полученная по данному методу оценка общего восстановительного эффекта индивидуальных низкомолекулярных антиоксидантов дает информацию о типах антиоксидантов и их концентрациях без точного качественного различия [120]. Реакция получения радикала происходит в несколько этапов, что удлиняет время проведения анализа и может увеличить разброс результатов [121,122].

ORAC – метод определения адсорбционной емкости по отношению к кислородным радикалам – является одним из наиболее применяемых в настоящее время. Метод основан на измерении интенсивности флуоресценции определенного соединения (фикоэритрина или флуоресцеина), которая возникает в результате его взаимодействия с активными формами кислорода, и измеряется от времени протекания реакции. В присутствии соединений, связывающих кислородные радикалы, увеличивается время флуоресценции вследствие защитного действия антиоксидантов. В качестве вещества-стандарта применяется тролокс [120].

Метод FRAP [123-126], разработанный в 1996 г. Benzie и Strain, основан на восстановлении Fe (III) в Fe (II) и позволяет проводить прямое определение низкомолекулярных антиоксидантов. Ионы Fe (III) могут окислять антиоксидант, восстанавливаясь до ионов Fe (II). Контроль за течением процесса ведут по уменьшению Fe (III) или увеличению концентрации ионов Fe (II). Для этого используют вспомогательные вещества, образующие окрашенные комплексы с одним из этих ионов.

Например, 2,2'-дипиридил и *o*-фенантролин [127], пиридил-2,6-дикарбоновая кислота [128], ферроцин [129], трипиридилтриазин [130]. При одновременном окислении нескольких антиоксидантов не исключено их взаимодействие, а также окисление первоначально образующихся продуктов избытком Fe(III) [126].

Проблема в том, что показатели АОА, выраженные в пересчете на $X_{ст}$, могут сильно (в несколько раз) отличаться от действительной величины суммарного содержания антиоксидантов. При одном и том же C_{Σ} любой показатель АОА зависит от природы и соотношения индивидуальных антиоксидантов в их природной смеси, поскольку все они определяются с разной чувствительностью (внутригрупповая селективность сигналов). Кроме того, АОА зависит от выбора $X_{ст}$ и R , а также от времени экспозиции и условий измерения обобщенного сигнала (ΣA). Таким образом, показатель АОА является приблизительной и субъективной оценкой искомого суммарного содержания ФА. Метрологическая неопределенность показателя АОА не мешает сравнивать с их помощью однотипные объекты, проанализированные по одной методике [131,132].

Преимуществами данного метода являются простота и экспрессность. Однако с помощью FRAP трудно определять липофильные антиоксиданты, а некоторые, например, глутатион, совсем не определяются. Также не все определяемые этим методом восстановители активны по отношению к свободным радикалам в условиях *in vivo*, что связано с большей кислотностью модельной системы [133].

Разработан простой и эффективный способ определения суммарной АОА, основанный на кулонометрическом титровании исследуемого образца электрогенерированным окислителем, в качестве которого используется бром, который вступает в радикальные и окислительные реакции с антиоксидантом, а также в реакции электрофильного замещения и присоединения по кратным связям. АОА выражают в единицах количества электричества (кулонах), затраченного на титрование 100 мл образца. [134].

В некоторых работах предложен потенциометрический метод определения АОА. Химическое взаимодействие антиоксидантов с медиаторной системой Me^{ox}/Me^{red} , приводит к изменению ее окислительно-восстановительного потенциала. Антиоксидантную активность выражают в г-экв/л. В качестве медиаторных систем могут быть использованы *Ox/Red* пары химических элементов или соединений, например, V(IV)/V(III), Sn(IV)/Sn(II), Fe(III)/Fe(II), хинон/гидрохинон и др. [135]. Известен способ с использованием медиаторной системы $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ [136].

Еще один электрохимический метод – метод катодной вольтамперометрии, основанный на реакции электровосстановления кислорода. Для определения антиоксидантов в исследуемых объектах рассматривается зависимость предельного тока первой волны электровосстановленного кислорода от концентрации антиоксидантов в объеме раствора и от времени протекания процесса. Метод отличается высокой чувствительностью, не требует длительной пробоподготовки [137].

Антиоксиданты, реагируя с супероксид анионами, уменьшают их концентрацию приэлектродном пространстве. Ток электрохимического восстановления кислорода уменьшается, что может быть использовано для сравнительной оценки АОА анализируемого раствора [138]. В работе [139] определение суммарной АОА ведется по относительному изменению тока электровосстановления кислорода в интервале потенциалов от 0,0 до -0,6 В на ртутно-пленочном электроде. Этот метод был использован для анализа водных экстрактов чая, мяты, лимонных корок и десяти экстрактов их бинарных смесей [140].

Однако существующие методы показывают сильно различающиеся значения АОА одних и тех же соединений [141], кроме того, в настоящее время нет единой единицы измерения АОА. Наиболее универсальным способом можно считать сравнение антиокислительной способности изучаемого объекта с АОА сильного восстановителя (вещества-стандарта), например, рутина, кверцетина, дигидрокверцетина или аскорбиновой

кислоты, обладающих высокой восстановительной способностью и входящих в состав пищевых продуктов. В этом случае АОА пищевых продуктов можно выразить количеством вещества-стандарта, производящего эквивалентный антиоксидантный эффект [127].

1.4 Хемометрические методы оценки качества чая

В анализе пищевых продуктов и сырья используют большой набор методов, обеспечивающих получение массивов экспериментальных данных, дальнейшую обработку которых проводят с помощью хемометрических процедур. Хемометрика является химической дисциплиной, применяющей математические и статистические методы, для построения или отбора оптимальных методов измерения, а также для извлечения наиболее важной информации при анализе экспериментальных данных [142].

Хемометрические методы можно разделить на две группы, соответствующие двум главным задачам: исследованию данных, например классификация или дискриминация, и предсказанию новых значений [143].

Иерархический кластерный анализ (ИКА) и метод главных компонент (МГК) являются наиболее распространенными неконтролируемыми методами, используемыми для классификации пищевых продуктов [144].

ИКА – метод кластеризации, при котором образцы организованы в кластеры с учетом их близости в многомерном пространстве. Результаты визуализируются в виде дендрограммы. Данный метод позволяет классифицировать различные объекты при отсутствии априорной информации о наблюдениях внутри классов [145].

МГК является процедурой линейного снижения размерности данных и уменьшения шума, не приводящей к существенной потере информации. Кроме того МГК позволяет смоделировать структуру данных и выделить группы образцов, схожих или различных между собой [146].

К контролируемым методам классификации относятся такие методы, как дискриминантный анализ (ДА), проекция на латентные структуры (ПЛС), искусственные нейронные сети (ИНС), метод опорных векторов (МОВ) и формальное независимое моделирование аналогий классов (ФНМАК). Дискриминантный анализ и формальное независимое моделирование аналогий классов являются наиболее используемыми методами распознавания образов пищевых продуктов [147].

Формальное независимое моделирование аналогий классов – метод распознавания образов с обучением, основанный на предварительном независимом формировании отдельных моделей классов методом главных компонент, с последующим расчетом расстояния между классами и оценке влияния переменных на разделение. Расстояние от нового образца до класса показывает, насколько далеко от него находится образец, а расстояние от образца до центра класса – насколько отличается новый образец от других образцов класса. Модели, построенные таким образом, обладают преимуществами описания целевых выборок, свободных от распределения [148].

Дискриминантный анализ – метод классификации многомерных наблюдений по принципу максимального сходства при наличии обучающих признаков. ДА использует линейные комбинации исходных переменных для достижения классовой дискриминации, тем самым увеличивая соотношение между классовой и внутриклассовой дисперсией, и направлен на установление показателей, позволяющих классифицировать два и более класса, используя вклад всех рассматриваемых классов. Результатом ДА является получение одной или нескольких функций, называемых дискриминантными, которые зависят от значений показателей так, что каждый объект, возможно, отнести к одной из групп [149,150].

Одной из наиболее активных областей применения методов распознавания образов является классификация товарных марок и региона произрастания. Хемометрический анализ данных, основанных на

органических компонентах, элементном составе, соотношении изотопов легких или тяжелых элементов или их комбинациях, полученных многокомпонентным методом, позволяет определить, какие компоненты обладают достаточной классификационной способностью, и на основе их концентраций сформировать профиль [151].

Профиль объекта – набор значений, описывающий либо содержание родственных компонентов характеризующихся общими физическими или химическими свойствами, либо содержание веществ относящихся к одному классу, например фенольные соединения. Составляющие профиля могут быть выражены, как в виде инструментальных «отпечатков пальцев» («сырые» аналитические сигналы), так и в относительных пропорциях – композиционный профиль [152].

Для получения профиля чая использовались различные аналитические методы: элементный анализ [153,154], хроматографический и электрофоретический анализы [155], флуориметрический анализ [156], электронный язык [157,158], электронный нос [159,160], мульти- или гиперспектральное изображение [161,162], цифровые изображения [163], спектроскопия в ближней инфракрасной области [164,165].

Для классификации чая по региональной и сортовой принадлежности получил распространение подход, основанный на изучении профиля катехинов и ксантинов чая (таблица 1.9).

Таблица 1.9 – Примеры классификации по виду и географической принадлежности чая на основе органических показателей

Метод определения	Исходная матрица данных	Методы обработки данных	Исследуемые группы	Источник
МЭКХ–УФ	$C_{\text{Кф}}, C_{\text{Кт}}, C_{\text{ЭКГ}}, C_{\text{ЭКК}}, C_{\text{ЭКГК}}, C_{\text{ЭКТ}}$	ДА	провинции Shizuoka, Kagoshima, Mie (Япония)	[155]
МЭКХ–ФД	$S_{\text{отн}}$ и $t_{\text{уд}}$ пиков электрофореграммы	КА	3 области провинции Zhejiang (Китай)	[167]

Метод определения	Исходная матрица данных	Методы обработки данных	Исследуемые группы	Источник
ВЭЖХ– ДМД– МС/МС	$C_{ЭГК}, C_{ЭГКГ}, C_{ЭКТ},$ $C_{ГКГ}, C_{ЭКГ}$	КА, МГК	провинции Hennan, Jiangsu, Zhejiang (Китай)	[168]
УЭЖХ– ДМД–МС	Концентрации 68 фенольных соединений	МГК	белый, зеленый, зеленый пу-эр	[169]
ВЭЖХ– ДМД–МС	$C_{ГК}, C_{Г6}, C_{ГКТ}, C_{ЭГК},$ $C_{КТ}, C_{КФ}, C_{ЭКТ},$ $C_{ЭГКГ}, C_{ГКГ}, C_{ЭКГ}$	МГК, КА	белый, зеленый, желтый, улун, пу-эр, черный	[170]
МЭКХ	$C_{ЭКТ}, C_{ЭГК}, C_{ЭКГ},$ $C_{КФ}, C_{ЭГКГ}, C_{КТ}, C_{Г6}$	МГК, КА, ДА	Япония, Китай.	[171]
ВЭЖХ–УФ	$C_{ГК}, C_{КГ}, C_{ГКТ}, C_{ЭГК},$ $C_{КТ}, C_{КФ}, C_{ЭКТ},$ $C_{ЭГКГ}, C_{ГКГ}, C_{ЭКГ}$	КА	7 основных производителей Китая	[172]

Для классификации ферментированного и неферментированного чая из Китая, Японии, Кении, Шри–Ланки и Индии, применялись методы распознавания образов, включающие анализ главных компонент и дискриминантный анализ. Содержание галловой кислоты, эпигаллокатехина галлата, эпигаллокатехина, эпикатехина, эпикатехин галлата, катехина, кофеина, теofilлина и теобромина определяли методом ОФ ВЭЖХ. Было показано, что концентрации катехинов, галловой кислоты и алкалоидов чая могут применяться для классификации ферментированного и неферментированного чая, выращиваемых в разных географических районах [166].

Десять компонентов были определены ВЭЖХ–ДМД–МС в 74 образцах зеленого, желтого, белого, красного, черного и пу–эр чая. Для классификации использовали метод главных компонент и иерархический кластерный анализ. 7 видов чая были успешно разделены на четыре категории: черный и пу–эр, зеленый и желтый, улун, а так же группа зеленого пу–эр [167].

Классификация чая по региональной принадлежности, на основе минерального состава заключается в том, что элементная композиция переносится из окружающей среды во время культивирования растений, что

приводит к различиям в содержаниях металлов растений, в зависимости от таких факторов как геология и состав почвы. Были проведены различные исследования, подтверждающие возможность региональной и сортовой идентификации чая методом многоэлементного отпечатка пальца. Обзор некоторых вариантов представлен в таблице 1.10.

Таблица 1.10 – Примеры классификации по сортовой и региональной принадлежности чая на основе неорганических показателей

Метод определения	Определяемые элементы	Методы обработки данных	Исследуемые группы	Источник
ИСП-МС	δD , $\delta^{13}C$, Ti, Cr, Co, Ni, Cu, Ga, Rb, Sr, Y, Nb, Cd, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Eu, Tl, Pb, Bi	ДА	Цейлон, Китай, Индия, Тайвань	[155]
ИСП-АЭС	Zn, Mn, Fe, Mg, Cu, Ti, Al, Sr, Ca, Ba, Na, K	МГК, ДА	Цейлон, Кения, Китай, Япония, Индия	[173]
ИСП-МС	Li, Be, Cr, Co, Ni, Ga, As, Sc, Se, Mo, Cd, Sb, Cs, Ba, Pb, Mn, Cu, Zn, Sr, Fe, Al, Mg, Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu	МГК, ДА	Области провинции Jiangsu (Китай)	[174]
ИСП-АЭС ИСП-МС	ИСП-АЭС: Al, Ba, Ca, Cu, Fe, La, Mg, Mn, Sr, Ti, Zn ИСП-МС: Cd, Co, Cr, Cs, Hg, La, Li, Nd, Ni, Pb, Pr, Rb, Se, Sn, Ti, V, Zr	КА, МГК	Индия, Африка, Китай	[175]
ИСП-АЭС	Na, Mg, Al, P, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, и Pb	ДА, ФНМАК	Аргентина и Цейлон	[176]
ИСП-МС	Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Tl, Pb	Дисперсионный и корреляционный анализы, ДА	Циндао, Хэфэй и Ханчжоу (Китай)	[177]

Метод определения	Определяемые элементы	Методы обработки данных	Исследуемые группы	Источник
ИСП–АЭС	Zn, Mn, Mg, Cu, Al, Ca, Ba и K	КА, МГК, ДА, ИНС	зеленый, улун, черный	[178]
ААС	Ca, K, Mg, Na, P, Mn, Fe, Zn, Cu, Co, Cd, Cr, Ni, Pb	МГК, КА	Китай, Индия и Япония	[179]
ИСП-АЭС ИСП-МС	ИСП-АЭС: Al, Ba, Ca, Fe, Mg, Mn, Sr, Zn; ИСП-МС: Co, Cr, Cs, Cu, Ni, Pb, Rb, Ti и V	КА, МГК, ДА, ФНМАК	Африка и Азия; Китай, Индия и Цейлон	[153]

Для определения маркеров географического происхождения зеленого чая собранного в различных районах выращивания чая в Китае использовали три хемометрические процедуры – линейный ДА, ПЛС-ДА и дерево решений (ДР). Полученные результаты содержаний восьми микроэлементов (Ga, Y, Cd, Sn, Sb, Tl, Pb и Bi) и 12 соотношений изотопов металлов ($^{111}\text{Cd}/^{113}\text{Cd}$, $^{117}\text{Sn}/^{118}\text{Sn}$, $^{118}\text{Sn}/^{119}\text{Sn}$, $^{143}\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$, $^{157}\text{Gd}/^{158}\text{Gd}$, $^{161}\text{Dy}/^{163}\text{Dy}$, $^{172}\text{Yb}/^{173}\text{Yb}$, $^{203}\text{Tl}/^{205}\text{Tl}$, $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$, $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, $^{63}\text{Cu}/^{65}\text{Cu}$ и $^{68}\text{Zn}/^{67}\text{Zn}$) показали, что прогнозирующая способность всех трех методов превышала 70%. Метод ДР показал лучшую производительность с точностью до 90%. Кроме того применение дерева решений показало самый низкий уровень ошибок - 1,5%, что лучше, чем показатель 6%, наблюдаемый для ПЛС-ДА [179].

В работе [180] классифицированы образцы пяти видов чая на основе концентраций алюминия, бария, кальция, меди, железа, магния, марганца, никеля, фосфора, калия, натрия, стронция, серы и цинка полученные ИСП–АЭС. Непараметрический тест Крускала–Уолиса применялся для выделения значительных различий данных между видами чая, а дискриминантный анализ и вероятностные нейронные сети PNN для построения классификационных моделей. Общая классификационная эффективность составила 81% для ДА и 97% для PNN.

Определенные ИСП–АЭС концентрации 17 элементов (Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Cs, Mg, Mn, Ni, Pb, Rb, Sr, Ti, V, Zn) были использованы для

классификации 85 образцов чая (36 образцов из азиатских стран, 18 образцов из африканских стран, 24 коммерческих смеси и семь образцов неизвестного происхождения) в соответствии с его географическим происхождением. В качестве методов исследования массива данных использованы анализ главных компонентов и кластерный анализ, а для построения классификационной модели дискриминантный анализ и метод формального независимого моделирования аналогии классов. Эффективность модели ДА составила 100,0% и 94,4% для африканского и азиатского чая соответственно, при уровне статистической значимости 5%. Для ФНМАК данный показатель составил 100,0% и 91,7% [153].

В исследовании [175] рассмотрено несколько возможных подходов к одновременной классификации чая на основе линейного дискриминантного анализа по виду – черный и зеленый чай и по географическому происхождению – Аргентина и Шри-Ланка. В качестве дискриминационных характеристик изучались: влажность, содержание золы, кофеина, фторида, общее содержание полифенолов и концентрация 15 элементов в чайных листьях и экстрактах. Для сравнения использовались методы ФНМАК, ПЛС–ДА и АСП–ДА. Элементный профиль и анализ методом АСП–ДА обеспечил наилучший результат идентификации вида и происхождения чая на основе трех дискрипторов, а именно концентрации К, Al и Mg.

Большинство классификационных исследований проводились на образцах, не соотнесенных с элементным составом почв произрастания. И выбранный элементный профиль является результатом не только воздействия географического происхождения, но и таких факторов как сорт и сезон [181-185]. В последние годы появились работы, в которых выбор элементов профиля места произрастания основан на изучении взаимосвязи содержания металлов в почве, на которой произрастает чай и в самом растении.

Так в работе [186] показано, что содержание Mg, Ni, Rb, Sr, Cd, Cs, Ba и Pb в листьях чая главным образом зависит от географического

происхождения; концентрации Al, Cu и U связаны с сортом чайного растения; в то время как на содержания Na, V, As, Se и Sn в основном влиял сезон сбора. С применением ступенчатого линейного дискриминантного анализа определено, что концентрации Mg, Ni, Rb, Sr, Cd и Pb тесно связаны с географическим происхождением и менее подвержены влиянию многообразия и сезона сбора урожая.

В работе [177] исследованы концентрации 20 элементов в образцах почвы нескольких глубинных слоев (0-20 см и 20-40 см) и свежих чайных листьях произрастающих на этих почвах. Образцы отобраны в 3 различных регионах Китая. Для создания дискриминантных моделей идентификации региона произрастания маркерами определены Na, Mg, Ca, Ni, Rb, Sr и Pb, содержание этих компонентов в чае тесно коррелирует с их концентрациями в почвах.

1.5 Выводы к аналитическому обзору

Проблема качества чая представляет теоретический и практический интерес у исследователей многих стран. Установление региональной и сортовой принадлежности чая является достаточно сложной задачей, обусловленной многокомпонентным составом исследуемого объекта, купажированием более низкосортным сырьем, а также информационной фальсификацией.

В последнее время географическое происхождение, а также конкретная область выращивания чая стали одним из атрибутов, признанных потребителями в качестве важного фактора, характеризующего продукт. Контроль региональной принадлежности чая включает определение фенольных соединений, различных изотопов, а также макро- и микроэлементов. Исследования по компонентам неорганической природы проводят на образцах с известным местом произрастания, на основе

установления связи между содержанием металлов в почве и в продукте, так без установления подобной связи. При классификации с использованием компонентов органической природы наиболее широкое распространение получили исследования профиля катехинов и ксантинов чая. Исследование хроматографических, элементных, электрофоретических и др., профилей с последующей обработкой с применением хемометрических алгоритмов позволяет осуществить поиск взаимосвязей между изучаемыми показателями, оценить вклад каждой из них в классификационную модель и выявить критерии качества, сортовой и региональной принадлежности чая.

Цель данной диссертационной работы – разработка подходов к установлению региональной принадлежности черного чая на основе особенностей его компонентного состава

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

1. Изучение катехинового состава и железовосстанавливающей способности черного чая различных регионов произрастания и установление взаимосвязи между этими характеристиками.

2. Установление особенностей минерального состава Краснодарского чая с использованием системы «почва – физиологически зрелый лист – флеш». Выявление компонентов содержания которых значимо различаются для чая I, III и IV микрон зон чайных плантаций Краснодарского края.

3. Обоснование подхода и построение модели классификации черного чая по региональной принадлежности на основе его концентрационного профиля.

4. Обоснование подхода и построение модели классификации черного чая по региональной принадлежности на основе его электрофоретического профиля.

2 Экспериментальная часть

2.1 Материалы, реактивы и используемое оборудование

Для проведения экспериментальных исследований использовали следующий перечень научного и вспомогательного оборудования ЦКП «Экологоаналитический центр» Кубанского госуниверситета:

- система капиллярного электрофореза «Капель–105М» (ООО "Люмэкс Маркетинг", Россия)
- кварцевый немодифицированный капилляр с эффективной длиной 50 см (общая длина 60 см) и внутренним диаметром 75мкм, ООО "Люмэкс-Маркетинг", Россия)
- спектрофотометр LEKI SS2107 (LEKI Instruments, Финляндия)
- центрифуга MiniSpinEppendorf (Германия)
- электроплитка бытовая «Искра», Вятка (Россия)
- фильтры шприцевые 0.20 мкм (Chromafil Xtra, PTFE-20/25)
- кюветы кварцевые номинальной толщиной поглощающего слоя 20 мм, (Россия)
- иономер «Эксперт–001»; (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия)
- электрод стеклянный комбинированный ЭСК-10601(Россия)
- магнитная мешалка (Leki, Финляндия)
- весы лабораторные ВЛР–200 2 класса точности (Россия)
- аппарат для дистилляции воды МРТУ 42–2028–62 (Россия)
- колбы мерные вместимостью 10, 25, 50, 100, 250, 500 см³ исполнения, 2 класса точности (Россия)
- колбы плоскодонные емкостью 250–300см³ (Россия)
- воронка стеклянная типа В-56-80 ХС (Россия)
- пипетки градуированные вместимостью 1, 2, 5, 10, 25 см³, 2 класса точности (Россия)

- одноканальные механические дозаторы переменного объема 5-50, 10-100 мкл (Лайт «Термо Фишер Сайентифик», Россия)
- одноканальный механический дозатор переменного объема 20-200 мкл (BIOHIT Proline, «Sartorius Biohit Liquid Handling», Финляндия)
- фильтры обеззоленные «Синяя лента» («Экос», Россия)
- фильтры обеззоленные «Белая лента» (ООО «Мелихор XXI», Россия)
- стаканы химические вместимостью 50, 100, 250 см³ (Россия)
- атомно-эмиссионный спектрометр с индуктивно связанной плазмой iCAP 6500 (Thermo Scientific, USA);
- система микроволновой подготовки проб MARS 6 (СЕМ, США);
- *o*-фенантролин 1-водный, имп. (Вектон, Россия)
- железоаммонийные квасцы, ч.д.а. (Вектон, Россия)
- аскорбиновая кислота, галловая кислота, кофеин, (+)-катехин гидрат, эпикатехин, (-)-эпигаллокатехин галлат, (-)-эпигаллокатехин, (-)-эпикатехин галлат, (-)-галлокатехин галлат, (-)-галлокатехин (Sigma-Aldrich, США)
- серная кислота, х.ч. (Сигма Тек, Россия)
- соляная кислота (о.с.ч., ХимМед, Россия)
- спирт этиловый (ректификованный, высшей очистки, 95–96%);
- вода дистиллированная, бидистиллированная
- натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный, калий фосфорнокислый однозамещенный, ч.д.а. (Реахим, Россия)
- натрий додецилсульфат (Sigma-Aldrich, США)
- кислота азотная, х.ч. (ЛенРеактив, Россия)
- СО водного раствора ионов бария ГСО 7760-2000;
- СО водного раствора ионов кальция ГСО 7772-2000;
- СО водного раствора ионов кадмия ГСО 6690-93;
- СО водного раствора ионов кобальта ГСО 8089-94;
- СО водного раствора ионов хрома ГСО 7834-2000;
- СО водного раствора ионов меди ГСО 7764-2000;

- СО водного раствора ионов железа ГСО 7835-2000;
- СО водного раствора ионов калия ГСО 8092-94;
- СО водного раствора ионов лития ГСО 7780-2000;
- СО водного раствора ионов магния ГСО 7767-2000;
- СО водного раствора ионов марганца ГСО 7875-2000;
- СО водного раствора ионов молибдена ГСО 7768-2000;
- СО водного раствора ионов натрия ГСО 7775-2000;
- СО водного раствора ионов никеля ГСО 7785-2000;
- СО водного раствора ионов свинца ГСО 7778-2000;
- СО водного раствора ионов рубидия ГСО 7034-95;
- СО водного раствора ионов стронция ГСО 7145-95;
- СО водного раствора ионов титана ГСО 7205-95;
- СО водного раствора ионов ванадия ГСО 7774-2000;

2.2 Объекты исследования

Объектом исследования служил чай черный байховый отличающийся регионом произрастания: цейлонский, китайский, индийский, кенийский и ассамский.

Кроме того, исследовали образцы почв, листьев чайного растения и черного чая, изготовленного из сырья, выращенного в условиях Краснодарского края, и предоставленные лабораторией Всероссийского НИИ цветоводства и субтропических культур г. Сочи. Образцы свежих чайных листьев фиксировали путем трех минутного пропаривания в аппарате Коха с последующим высушиванием при температуре 65-70°C. Образцы почв и чая высушивали, измельчали, просеивали через сито, упаковывали в полиэтиленовые пакеты и хранили в лаборатории до анализа.

2.3 Определение кофеина, катехинов и галловой кислоты в чае методом МЭКХ

Электрофоретическое разделение компонентов проводили с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель 105» с положительной полярностью, УФ–детектором и пневматическим вводом пробы. Использовали немодифицированный кварцевый капилляр с внешней полиамидной пленкой длиной 60 (50) см и внутренним диаметром 75 мкм, прозрачным в УФ–области спектра.

Капилляр перед началом работы кондиционировали последовательной промывкой раствором соляной кислоты с концентрацией 1 моль/дм³, бидистиллированной водой и раствором гидроксида натрия с концентрацией 1 моль/дм³, бидистиллированной водой, фоновым электролитом.

Анализируемую пробу (экстракт чая) помещали в тefлоновые пробирки Эппендорф, центрифугировали 3 мин со скоростью вращения 7000 мин⁻¹ и переносили в систему капиллярного электрофореза. В капилляр пробу вводили пневматическим способом, создавая давление 30 мбар. Анализируемые соединения детектировали при длине волны 210 нм. За результат анализа принимали среднее значение трех параллельных измерений.

В качестве фоновых электролитов использовали фосфатные буферные растворы (ФБ) содержащие мицеллообразователь – додецил сульфат натрия (ДДСН) и органический модификатор – этиловый спирт (ЭС), в соответствии с таблицей 2.1

Таблица 2.1 – Состав фонового электролита

№	С _{ФБ} , мМ/дм ³	Содержание ЭС, %	рН	С _{ДДСН} , мМ/дм ³
1	10	1	6	15
2	10	10	8	15
3	45	10	6	15
4	45	1	8	15

5	10	10	6	100
6	10	1	8	100
7	45	1	6	100
8	45	10	8	100
9	20	4	7	15
10	20	7	8	15
11	35	7	7	15
12	35	4	8	15
13	20	7	7	50
14	20	4	8	50
15	35	4	7	50
16	35	7	8	50
17	25	5	7,4	30

Для построения градуировочного графика использовали растворы галловой кислоты ($C = 200 \text{ мг/дм}^3$), эпикатехина ($C = 100 \text{ мг/дм}^3$) катехина ($C = 1000 \text{ мг/дм}^3$), кофеина ($C = 1000 \text{ мг/дм}^3$), эпигаллокатехин галлата ($C = 1000 \text{ мг/дм}^3$), эпигаллокатехина ($C = 1000 \text{ мг/дм}^3$), эпикатехин галлата ($C = 1000 \text{ мг/дм}^3$), галлокатехин галлата ($C = 1000 \text{ мг/дм}^3$) и галлокатехина ($C = 1000 \text{ мг/дм}^3$) полученные растворением навески соответствующего вещества в 5 %-ном растворе этилового спирта. Концентрации аналитов в градуировочных смесях представлены в таблице 2.2

Таблица 2.2 – Концентрации аналитов в градуировочных смесях

Аналит	Концентрация, мкг/ см ³				
	1	2	3	4	5
Кофеин	25	50	75	100	150
Катехин	0,5	1	2,5	5,0	10
Эпигаллокатехин галлат	10	25	50	100	200
Эпикатехин	0,5	1	2,5	7,5	20
Галловая кислота	0,5	1	5	10	30
Эпигаллокатехин	1	5	10	50	150
Эпикатехин галлат	5	10	20	30	50
Галлокатехин галлат	2	10	20	30	50

Аналит	Концентрация, мкг/ см ³				
	1	2	3	4	5
Галлокатехин	1	2,5	5,0	7,5	20

Пробоподготовка. Исследованы несколько вариантов экстракции, приближенная к потребительской – обработка кипящей водой с последующим настаиванием в течение 7 мин, и для оценки количественного содержания обработка кипящей водой с последующим выдерживанием в течение 45 мин на водяной бане (ГОСТ 19885–74 [187]), разбавление 1:4 и экстракция метанолом (ГОСТ ISO 14502–2–2015 [188]), разбавление 1:8. Содержание аналитов при выдерживании на водяной бане и экстракции метанолом являются сопоставимыми, в то время как при обработке кипятком с последующим настаиванием в течение 7 мин, содержание исследуемых компонентов уменьшается в 1,5 раза (таблица 2.3) В дальнейшем для количественного определения экстракцию проводили согласно ГОСТ 19885–74.

Таблица 2.3 – Содержание катехинов, кофеина и галловой кислоты в образцах черного чая при разных способах экстракции

Пробоподготовка	Образец	С, мг/г				
		Кф	Кт	ЭГКГ	ЭКт	ГК
Обработка кипящей водой с последующим настаиванием в течение 7 мин	Akbar gold	26,64±2,22	1,06±0,06	7,1±1,02	1,31±0,26	3,07±0,61
	Ahmad EB	28,01±0,91	0,52±0,04	4,24±0,08	0,89±0,04	2,78±0,22
	Казачок	16,99±1,38	0,24±0,01	1,86±0,15	0,44±0,08	1,22±0,18
Обработка кипящей водой с последующим выдерживанием в течение 45 мин на водяной бане	Akbar gold	31,00±2,97	1,68±0,16	9,66±1,48	2,27±0,23	5,65±0,70
	Ahmad EB	29,26±1,26	1,13±0,19	5,43±0,48	1,59±0,20	4,67±0,29
	Казачок	19,43±1,49	0,7±0,08	6,24±1,18	1,02±0,15	2,20±0,37
Экстракция метанолом	Ahmad EB	31,85±1,70	1,23±0,28	5,67±0,62	1,75±0,18	4,27±0,20

2.4 Определение суммарного содержания фенольных антиоксидантов

Для оценки суммарного содержания фенольных антиоксидантов (ССФА) черного чая использовался спектрофотометрический метод анализа с индикаторной системой Fe(III)/Fe(II) – *o*-фенантролин, в пересчете на стандартный образец галловая кислота для двух времен экспонирования 10 и 60 минут.

Приготовление комплексного реагента содержащего 0,010 моль/дм³ *o*-фенантролина и 0,006 моль/дм³ Fe (III) проводили следующим образом: навеску 0,723 г железоаммонийных квасцов переносили в мерную колбу на 250 см³, добавляли приблизительно 80 см³ дистиллированной воды и 5 см³ соляной кислоты с концентрацией 1 моль/дм³ и тщательно перемешивали. К полученному раствору добавляли раствор *o*-фенантролина, приготовленный растворением навески 0,495 г *o*-фенантролина в 100 см³ дистиллированной воды при нагревании. Далее реагент охлаждали до комнатной температуры и доводили до метки дистиллированной водой. После приготовления комплексный реагент выдерживали в темном месте не менее 12 часов.

Для построения градуировочного графика использовали раствор галловой кислоты с концентрацией 0,001 моль/дм³, полученный растворением навески в дистиллированной воде с последующим разбавлением.

Экстракт чая готовили в соответствии с ГОСТ 19885–74 [187]. Полученный экстракт разбавляли перед анализом в 100 раз.

Измерение оптической плотности окрашенного раствора проводили при $\lambda = 490$ нм в кювете с толщиной 20 мм. Антиоксидантную активность рассчитывали по предварительно построенному градуировочному графику в диапазоне 0,5 - 8,0 мкмоль/дм³ с учетом разбавления пробы. Полученные значения антиоксидантной активности выражали в мкмоль ГК/г.

2.5 Определение металлов в чае и почве методом ИСП-АЭС

Определение содержания K, Ca, Mg, Fe, Mn, Al, Si, Zn, Na, Sr, Ba, Cu, Ni, Pb, Cr, Li, V, Ti, Co, Cd, Mo в образцах чая и почвы проводили методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой с использованием спектрометра «iCAP 6000» в следующих условиях:

- мощность высокочастотного генератора – 1150Вт;
- скорость распылительного потока аргона – 0,5 л/мин;
- скорость плазмообразующего потока аргона – 0,6 л/мин;
- скорость охлаждающего потока аргона – 12 л/мин.

При определении содержания практически всех исследуемых металлов были использованы их наиболее чувствительные аналитические линии (таблица 2.3) за исключением Al, V, Ca, Mg, Sr, для которых были выбраны альтернативные линии, что связано с наличием спектральных наложений, а также в случае некоторых макроэлементов, необходимостью снижения интенсивности сигнала [189,190].

Таблица 2.3 – Спектральные линии определяемых элементов

Металл	λ , нм	Металл	λ , нм	Металл	λ , нм
Cr	267,716 (II)	Sr*	421,552 (II)	Mg*	280,270 (II)
Fe	259,940 (II)	Zn	213,856 (I)	Ti	334,941 (II)
Li	670,784 (I)	Pb	220,353 (II)	Al*	396,152 (I)
Cd	226,502 (II)	Ca*	422,673 (I)	Na	588,995 (I)
Cu	324,754 (I)	K	766,490 (I)	Ba	455,403 (II)
Co	238,892 (II)	Mn	257,610 (II)	Ni	231,604 (II)
V*	292,402 (II)	* альтернативная аналитическая линия элемента			

Образцы почвы и чая подвергали кислотной минерализации при соотношении реагентов (7,0 мл HNO₃ + 2,0 мл H₂O) в микроволновой лабораторной системе Mars-6 по программе окисления указанной в таблице 2.4. Полученный минерализат разбавляли в 100 раз при определении Al, Ca, K, Mg, Mn и использовали без разбавления для остальных металлов.

Таблица 2.4 – Температурный режим программы окисления проб почвы и чая в микроволновой системе

Этап	t, мин	T, °C	Этап	t, мин	T, °C
1	4.30	80	3	4.00	200
2	3.30	165	4	14.00	200

Для построения градуировочного графика использовали растворы ионов K, Ca, Mg, Fe, Mn, Al, Zn, Na, Sr, Ba, Cu, Ni, Pb, Cr, Li, V, Ti, Co, Cd, Mo полученные из ГСО элементов с массовой концентрацией 1 мг/см³ последовательным разбавлением. Концентрации аналитов в градуировочных растворах представлены в таблице 2.5 для определения металлов в чае и в таблице 2.6 в почве.

Таблица 2.5 – Концентрация ионов металлов в градуировочных растворах для определения металлов в чае

Металл	Концентрация, мкг/дм ³					
	1	2	3	4	5	6
Al	20	50	100	200	500	1000
Ca	40	100	200	400	1000	2000
K	100	250	500	1000	2500	5000
Mg	20	50	100	200	500	1000
Mn	20	50	100	200	500	1000
Ba	40	100	200	400	1000	2000
Cd	1	2,5	5	10	25	50
Co	1	2,5	5	10	25	50
Cr	2	5	10	20	50	100
Cu	20	50	100	200	500	1000
Fe	100	250	500	1000	2500	5000
Li	1	2,5	5	10	25	50
Mo	1	2,5	5	10	25	50
Na	40	100	200	400	1000	2000
Ni	20	50	100	200	500	1000
Pb	1,96	4,9	9,8	19,6	49	98
Sr	18	45	90	180	450	900
Ti	20	50	100	200	500	1000

Таблица 2.6 – Концентрация ионов металлов в градуировочных растворах для определения металлов в почве

Металл	Концентрация, мкг/дм ³					
	1	2	3	4	5	6
Al	100	200	500	1000	2000	-
Ca	100	200	500	1000	2000	-
K	100	200	500	1000	2000	-
Mg	100	200	500	1000	2000	-
Mn	100	200	500	1000	2000	-
Zn	200	400	1000	2000	4000	-
Sr	100	200	500	1000	2000	-
Cu	100	200	500	1000	2000	-
Ni	100	200	500	1000	2000	-
Na	100	200	500	1000	2000	-
Pb	50	100	250	500	1000	-
Li	50	100	250	500	1000	-
Ba	100	200	500	1000	2000	5000
Cd	1	2	5	10	20	100
Mo	1	2	5	10	20	100
Cr	50	100	250	500	1000	2000
V	50	100	250	500	1000	5000
Co	20	40	100	200	400	1000

Стабильность градуировочных характеристик проверяли анализом контрольного раствора, соответствующего 4 градуировочному раствору, через каждые 15 анализируемых растворов и в конце измерений согласно [190]. Результаты контроля не превышали значений представленных в таблице 2.7

Таблица 2.7 – Результаты контроля стабильности градуировочных характеристик

Металл	K	Ca	Mg	Al	Mn	Fe	Ba	Na	Zn	Cu	Ni
K, %*	14,7	14,6	8,8	14,4	12,0	3,9	9,1	12,8	6,7	11,7	12,2
Металл	Sr	Ti	Cr	Pb	Co	Li	Si	Cd	Mo	V	
K, %*	8,1	3,5	5,4	14,0	14,6	13,9	7,7	11,9	14,3	14,6	

* Значение контроля не должно превышать 15%

3 Результаты и их обсуждение

В последние годы во многих странах мира вопросы качества и контроля подлинности пищевых продуктов становятся всё более актуальными. Проблемам восстановления и развития чаеводства на Кубани также уделяется пристальное внимание. С целью стимулирования деятельности производителей чайного листа, создания экономических условий для производства и поставки на потребительский рынок конкурентоспособного, отвечающего международным стандартам чая, Законодательным собранием Краснодарского края принят закон № 3453-КЗ от 08.08. 2016 «О развитии чаеводства на территории Краснодарского края». Этот закон направлен на защиту качества и обеспечение безопасности выращенного чайного листа и чая, произведенного на территории края. При реализации региональной политики в области чаеводства предусматривается осуществление мониторинга качества чая с наименованием «Краснодарский чай», который необходимо проводить в нескольких направлениях. С одной стороны, оценивать качество чая как продукта питания, с другой – контролировать региональную принадлежность чая и устанавливать факт возможной его фальсификации.

Основой для классификации чая может служить профиль полифенолов и ксантинов чайного экстракта. Обладая высокой биологической активностью, именно они, в большей степени, характеризуют качество и полезные свойства чайного напитка. Количественный состав этих компонентов изменяется в зависимости от вида растения, климата и места произрастания чая, а также от степени его ферментации.

Другим подходом к классификации чая по региональной принадлежности, является исследование его минерального состава, который переносится из окружающей среды во время культивирования растений, что приводит к различиям в содержаниях металлов растений, в зависимости от таких факторов как геология и состав почвы [191].

Настоящая работа направлена на выявление особенностей минерального и органического состава чая, выращенного в условиях Краснодарского края и Адыгеи, и разработке на этой основе подхода к его идентификации.

3.1 Оптимизация условий определения кофеина, катехинов и галловой кислоты в черном чае методом МЭКХ

В настоящее время для исследования полифенолов чая получил распространение метод мицеллярной электрокинетической хроматографии. Высокая эффективность разделения и чувствительность метода, обуславливает его применимость для исследования катехинового состава чайной продукции.

Наиболее распространенный подход к разработке и оптимизации методик капиллярного электрофореза заключается в изменении одного фактора, такого как, рН среды, концентрации фонового электролита и модификатора при сохранении постоянства остальных. Это является довольно трудоемкой процедурой, не учитывающей эффекты взаимодействия между экспериментальными переменными оказывающими влияние на разделение сигналов аналитов. Применение методов планирования экспериментов позволяет одновременно оценивать все выбранные факторы и их взаимодействие, кроме того, статистическая интерпретация полученных результатов путем построения графиков отклика поверхности и прогнозирования по всей области делает оптимизацию условий определения исследуемых компонентов более простой и надежной [192].

Для оптимизации условий одновременного определения кофеина (Кф), катехина (Кт), эпигаллокатехин галлата (ЭГКГ), эпикатехина (ЭКт), эпигаллокатехина (ЭГК), эпикатехин галлата (ЭКГ), галлокатехин галлата (ГКГ), галлокатехина (ГКт) и галловой кислоты (ГК) методом МЭКХ

применен дробный факторный план типа 2^{4-1} (ДФП). ДФП включал варьирование четырех факторов в широком диапазоне: концентрация фосфатного буферного раствора ($C_{\text{ФБ}}$) и мицеллообразователя додецилсульфата натрия ($C_{\text{ДДСН}}$), рН фонового электролита (рН) и содержание органического модификатора этилового спирта ($C_{\text{Эт}}$). Выбранные уровни факторов составляли 10 и 45 мМ для концентрации буфера; 15 и 100 мМ для концентрации ДДСН; 6 и 8 для рН, а также 1 и 10% для этилового спирта. Анализ электрофореграмм модельного раствора исследуемых аналитов показал, что использование фонового электролита с концентрацией фосфатного буферного раствора менее 20 мМ не позволяет получить воспроизводимые электрофореграммы. Высокие концентрации мицеллообразователя, фонового электролита, этилового спирта и значения рН дают предельные значения силы тока в системе и приводят к значительному увеличению времени анализа. С учетом полученных предварительных экспериментальных результатов уровни факторов были скорректированы (таблица 3.1). Матрица планирования (таблица 3.2) включала 8 экспериментов, каждый из которых повторяли трижды.

Таблица 3.1 – Уровни факторов ДФП

Фактор	Шифр фактора	Уровень фактора	
		Нижний	Верхний
рН	X_1	7	8
$C_{\text{ФБ}}$, мМ	X_2	20	35
$C_{\text{ДДСН}}$, мМ	X_3	15	50
$C_{\text{Эт}}$, %	x_4	4	7

Таблица 3.2 – Матрица планирования ДФП

№ эксперимента	Факторы							
	X_0	X_1	X_2	X_3	$X_1 X_2$	$X_1 X_3$	$X_2 X_3$	$X_4 (X_1 X_2 X_3)$
1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
2	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1
3	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1
4	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1

№ эксперимента	Факторы							
	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₄ (X ₁ X ₂ X ₃)
5	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1
6	1	1	1	-1	-1	1	-1	-1
7	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1
8	1	1	1	1	1	1	1	1

В качестве переменных откликов функции ДФП использовали время выхода последнего компонента (t), силу тока в системе (I), а также разрешение соседних пиков электрофореграммы (R). Применение к полученным результатам экспериментов ДФП диаграмм Парето (рисунок 3.1, приложение А), позволило определить факторы оказывающие статистически значимое ($p=0,05$) влияние на исследуемые переменные: I – C_{фб}, C_{ддсн}, рН; t – C_{ддсн}, рН; R – C_{ддсн}, R_{ГК} – C_{ддсн}, рН.

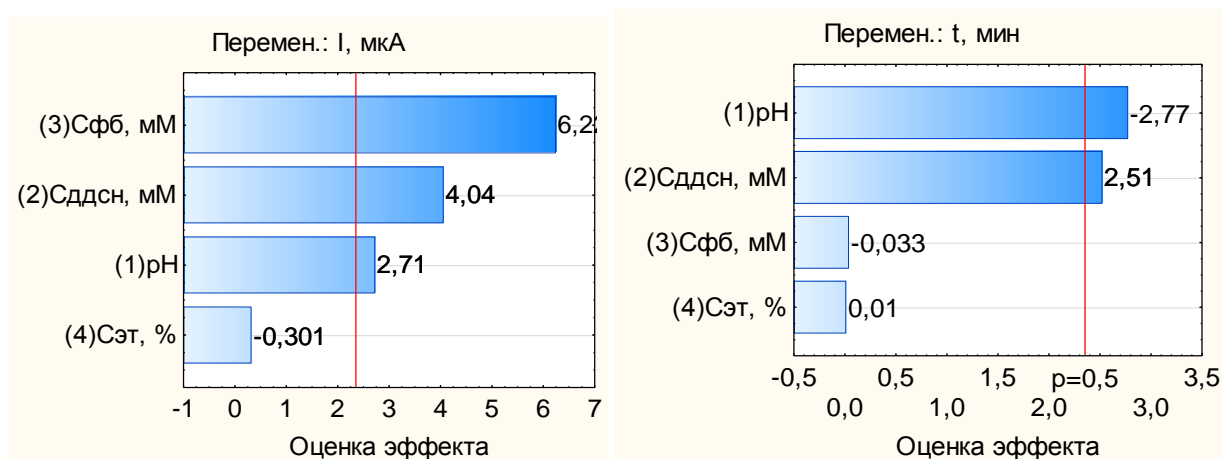


Рисунок 3.1 – Диаграмма Парето стандартизированных эффектов для переменных сила тока в системе и время анализа

Анализ профилей прогнозируемых значений (рисунок 3.2, на примере пары Кф/Кт) показал, что наиболее сложно разрешающимися парами является Кф/Кт и ЭГКГ/ЭКт и для оптимального разрешения ($R \geq 2$), концентрация ДДСН должна быть не менее 30мМ.

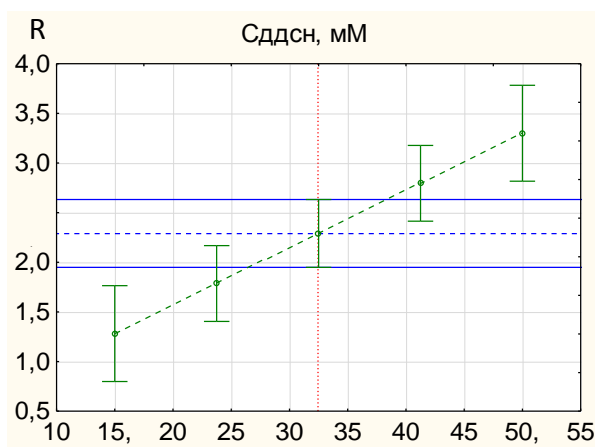


Рисунок 3.2 – Профиль прогнозируемого значения разрешения для пары Кф/Кт

Для определения оптимальных значений pH и концентрации ФБ получены графики поверхностей для откликов силы тока в системе и времени анализа (рисунок 3.3). Изучение поверхностей откликов позволили определить, что значения концентрации и pH фонового электролита при силе тока в системе, не превышающей рекомендованную, и минимальном времени анализа должны составлять 30мМ и 7,4 соответственно.

Проверку адекватности модели ДФП, проводили построением графиков экспериментальных и предсказанных значений (рисунок 3.4, приложение А). Во всех случаях, экспериментальные точки расположены близко к прямой. Это свидетельствует, что предложенная модель хорошо описывает экспериментальные данные.

Таким образом, оптимальными условиями определения катехинов, кофеина и галловой кислоты является 25 мМ фосфатный буферный раствор с pH 7,4, содержащий 30 мМ ДДСН и 5% этилового спирта. В этих условиях все пики хорошо разрешены – $R > 2$ (рисунок 3.5). В оптимизированных условиях время анализа составляет 25 минут, а сила тока в системе не превышает 120мкА [193].

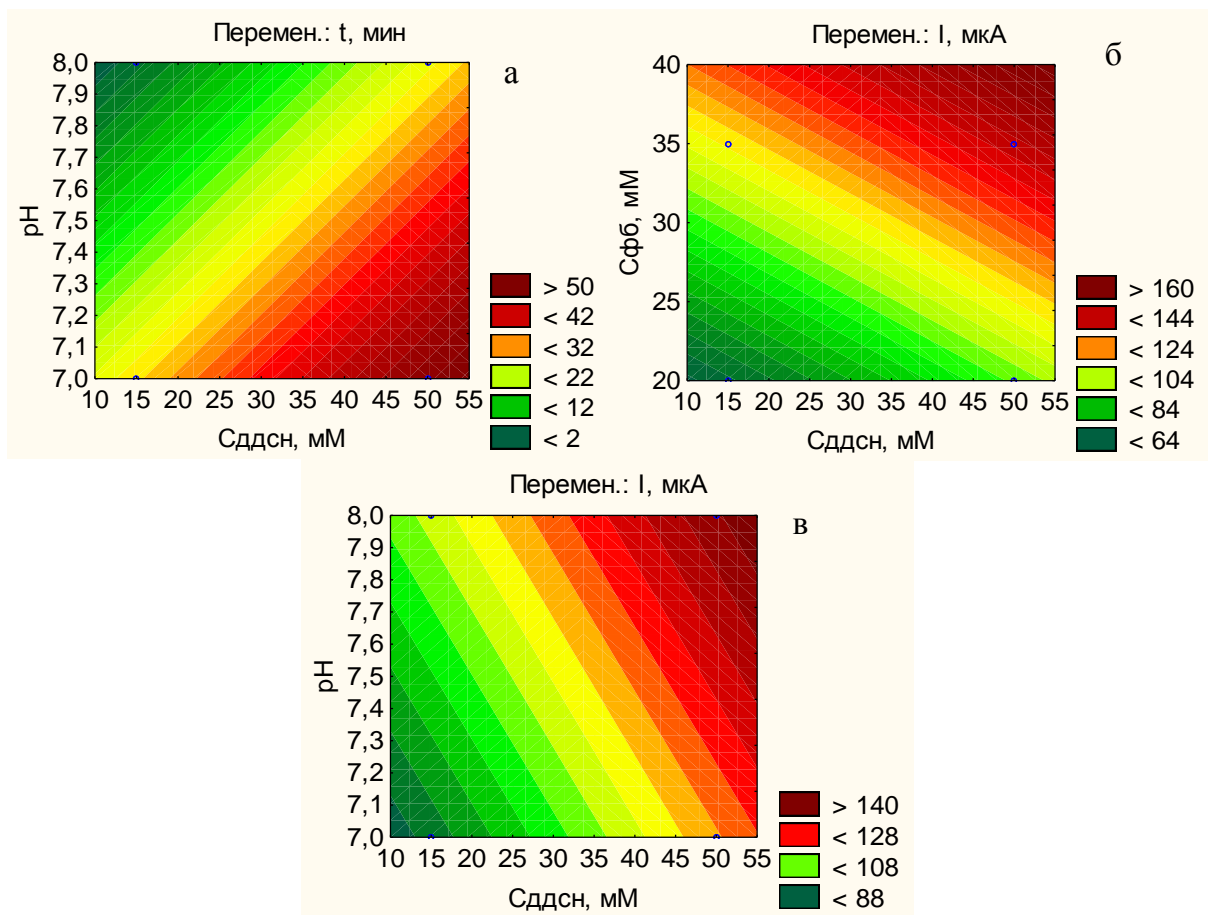


Рисунок 3.3 – Поверхности отклика для зависимых переменных а) время анализа от $S_{ддсн}$ и pH, б) сила тока в системе от $S_{ддсн}$ и $C_{фб}$, в) сила тока в системе от $S_{ддсн}$ и pH

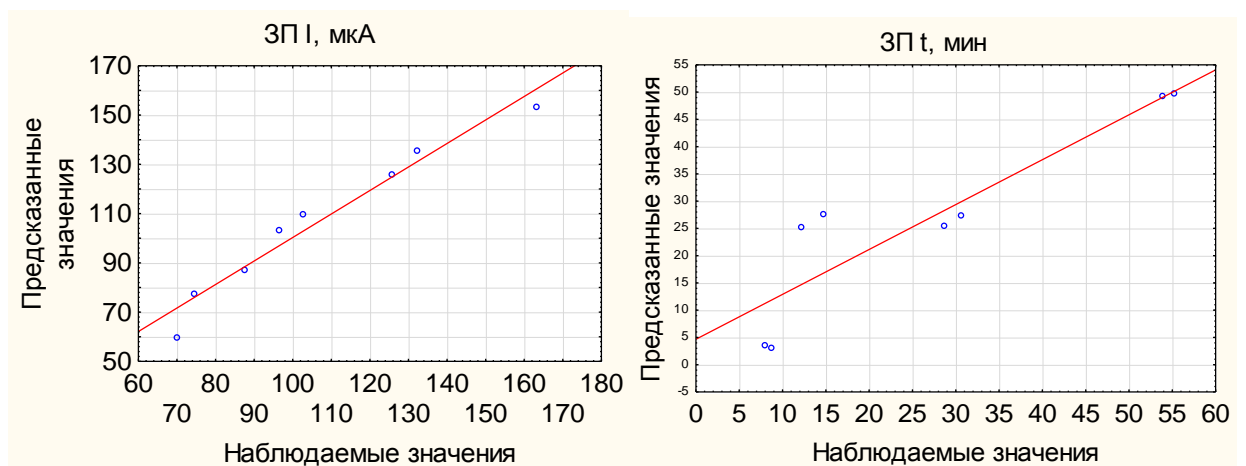
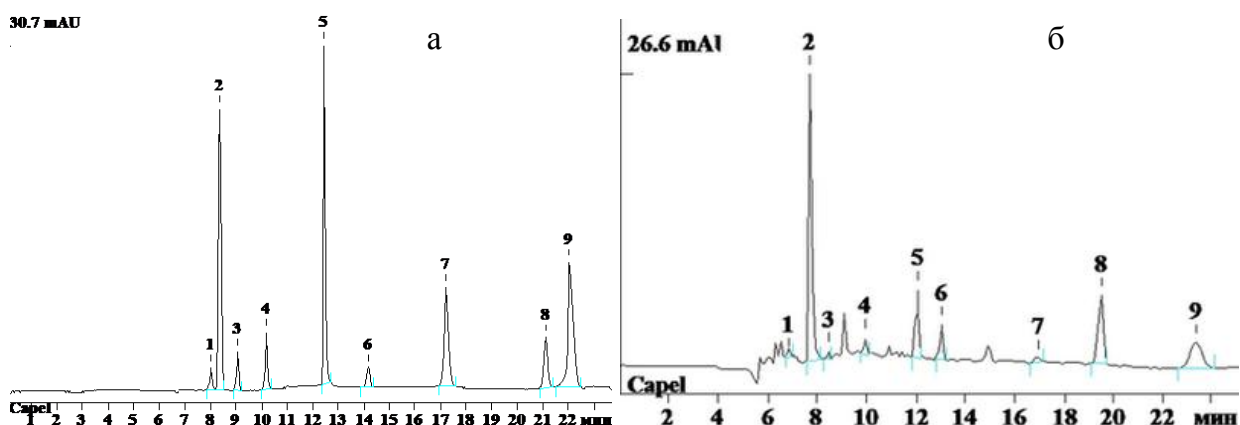


Рисунок 3.4 – График экспериментальных и предсказанных значений для переменных сила тока в системе и время анализа



1–ГКТ, 2–КФ, 3–КТ, 4–ЭГК, 5–ЭГКГ, 6–ЭКТ, 7–ГКГ, 8–ГК, 9–ЭКГ

Условия анализа: фоновый электролит - 25 мМ фосфатный буфер (рН 7,4) с добавлением 30 мМ ДДСН и 5% этилового спирта; ввод: 30 мбар, 10 с; U = +25 кВ; T = 25°C

Рисунок 3.5 – Электрофореграмма а) модельного раствора кофеина, катехинов и галловой кислоты и б) экстракта черного чая в оптимальных условиях

Оценку матричных влияний проводили на примере кофеина, катехина, эпигаллокатехин галлата, эпикатехина и галловой кислоты в присутствии экстракта чая. Матричный эффект (МЭ,%) рассчитывали как отношение площади пика аналита внесённого в экстракт пробы к площади пика аналита в той же концентрации в растворителе. Среднее матричное отклонение (СМО,%) рассчитывали как среднее значение абсолютного отклонения от 100% для каждого аналита (n=5) [194]. Из приведенных в таблице 3.3 данных видно, не превышает 16% и не оказывает существенного влияния на определение исследуемых компонентов.

Таблица 3.3 – Значения МЭ и СМО для кофеина, катехина, эпигаллокатехин галлата, эпикатехина и галловой кислоты

Аналит	Кф	КТ	ЭГКГ	ЭКТ	ГК
МЭ, %	95	89	115	95	105
СМО, %	5	11	16	4	5

Еще одним подтверждением незначительного влияния матрицы чая при определении кофеина, катехина, эпигаллокатехин галлата, эпикатехина и

галловой кислоты является сохранение тангенса угла наклона градуировочной кривой и ее смещение по оси ординат на величину соответствующую аналитическому сигналу введенной лобавки экстракта чая (рисунок 3.6 на примере Кт, ГК, ЭКт).

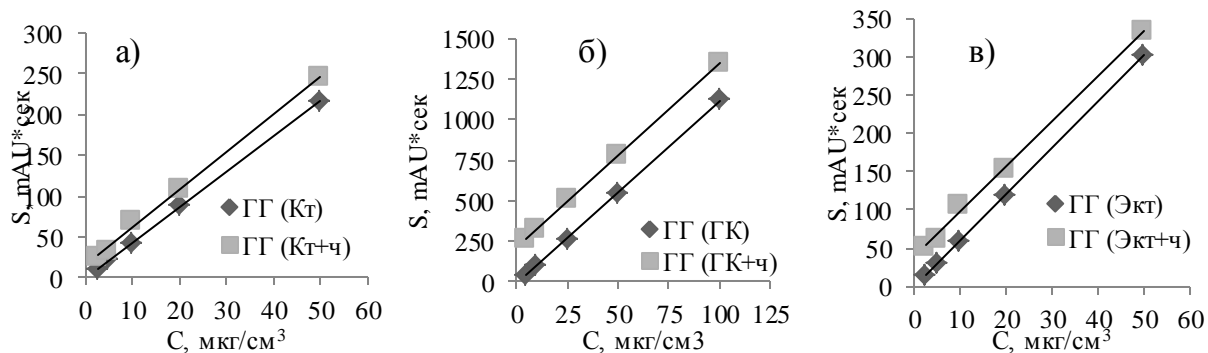


Рисунок 3.6 – градуировочные графики а) катехина, б) галловой кислоты, в) эпикатехина построенные на стандартных растворах и на экстракте чая

Методом «Введено-найденно» на модельном растворе (таблица 3.4) и экстракте образца чая (таблица 3.5) проведена оценка правильности определения. Погрешность определения аналитов в обоих случаях не превышала 15%.

Таблица 3.4 – Проверка правильности определения аналитов методом «Введено-найденно» на модельном растворе, содержащем кофеин, катехин, эпигаллокатехин галлат, эпикатехин и галловую кислоту

Компонент	Состав модельного раствора, мкг/мл	Степень открытия, %
Кф	100	100 ± 2
Кт	5	94 ± 2
ЭГКГ	20	99 ± 5
ЭКт	5	108 ± 4
ГК	25	95 ± 3

Таблица 3.5 – Проверка правильности определения кофеина, катехина, эпигаллокатехин галлата, эпикатехина и галловой кислоты в экстракте чая

Компонент	Концентрация в экстракте чая, мкг/см³	Добавка мкг/см³		Δ , %
		Введено	Найдено	
Кф	73±4	100	85 ± 4	15
Кт	5.9±0.3	5.0	4.3 ± 0.4	14
ЭГКГ	10.1±1.7	30.0	27.1 ± 1.8	10

Компонент	Концентрация в экстракте чая, мкг/см ³	Добавка мкг/см ³		Δ , %
		Введено	Найдено	
ЭКт	15.8±2.1	10.0	10.4 ± 0.9	4
ГК	41±4	30.0	25.8 ± 1.4	14

Проведен расчет значений пределов обнаружения и определения аналитов предлагаемой методики. За предел обнаружения принимали значение равное трем стандартным отклонениям при измерении сигнала холостого опыта отнесенных к коэффициенту инструментальной чувствительности, равному тангенсу угла наклона прямолинейного участка градуировочной прямой, а за предел определения – равное шести стандартным отклонениям отнесенных к коэффициенту инструментальной чувствительности. Значения пределов обнаружения и определения и диапазонов измерений аналитов приведены в таблице 3.6

Таблица 3.6 – Значения пределов обнаружения и определения и диапазонов измерений аналитов

Аналит	ГКт	Кф	Кт	ЭГК	ЭГКГ	ЭКт	ГКГ	ГК	ЭКГ
Диапазон измерений, мкг/см ³	1-20	1-150	0,5-10	1-150	1-200	0,5-20	1-50	0,5-30	1-50
Динамический диапазон	1,3	2,2	1,3	2,2	2,3	1,6	1,7	1,8	1,7
Предел обнаружения, мкг/см ³	0,3	0,7	0,3	0,5	0,4	0,3	0,4	0,3	0,5
Предел определения, мкг/см ³	0,6	1,1	0,5	1,0	0,9	0,5	0,8	0,5	1,0

Оценку метрологических характеристик оптимизированной методики проводили в соответствии с РМГ 61-2010 [195]. Для оценки показателя правильности выбран метод варьирования навески. Образцы являлись рабочие пробы чая и рабочие пробы чая с измененной навеской. Массу измененной навески подбирали в зависимости от показателя воспроизводимости, и она составила 1,0г. Результаты единичных анализов для оценки показателей прецензионности и правильности анализа представлены в таблицах 3.7 и 3.8.

Таблица 3.7 – Результаты единичного анализа полученного в условиях прецензионности

Концентрация мкг/мл																		
№	ГКТ		Кф		КТ		ЭГК		ЭГКГ		ЭКТ		ГКГ		ГК		ЭКГ	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	1,39	1,45	84,33	84,48	2,41	2,84	4,70	4,59	28,78	29,82	4,41	4,80	5,05	5,58	13,04	13,55	20,82	19,63
2	1,37	1,65	85,01	85,76	2,59	3,1	4,89	4,85	28,48	28,61	4,18	4,54	4,61	5,09	12,99	11,88	21,91	23,71
3	1,26	1,43	90,44	91,25	2,26	2,54	4,81	4,70	24,60	21,03	4,70	4,24	4,95	5,24	12,43	12,18	22,73	23,22
4	1,23	1,38	88,47	88,71	2,17	1,83	4,18	4,29	26,18	29,17	4,52	4,83	4,44	4,92	12,56	13,37	21,43	21,58
5	1,56	1,6	88,93	89,80	2,02	2,21	4,38	4,26	23,37	27,12	4,53	3,93	5,03	5,12	13,90	13,48	20,90	22,29
6	1,39	1,38	79,43	78,61	2,65	2,54	5,03	5,00	23,36	27,43	4,27	4,53	4,83	4,92	13,45	13,00	18,94	19,87
7	1,49	1,29	78,87	79,31	2,25	2,69	4,32	4,21	28,81	30,61	3,52	3,12	4,25	3,94	13,46	11,98	19,22	17,76
8	1,22	1,42	77,98	78,45	2,53	2,92	4,10	3,98	23,34	27,87	3,51	3,39	4,42	4,00	9,82	10,81	19,23	18,56
9	1,37	1,52	85,64	86,09	2,61	2,57	5,14	5,14	26,47	22,74	4,70	4,67	4,66	4,46	14,54	14,92	21,81	20,28
10	1,65	1,82	83,23	83,17	2,32	2,6	5,12	5,20	26,07	27,82	4,48	4,60	4,73	5,02	13,34	12,06	20,25	19,04

Таблица 3.8 – Результаты единичного анализа пробы и пробы с измененной навеской для оценки показателя правильности методики

Концентрация мкг/мл																		
№	ГКт		Кф		Кт		ЭГК		ЭГКГ		ЭКт		ГКГ		ГК		ЭКГ	
	1 ^а	2 ^б	1 ^а	2 ^б	1 ^а	2 ^б	1 ^а	2 ^б	1 ^а	2 ^б	1 ^а	2 ^б	1 ^а	2 ^б	1 ^а	2 ^б	1 ^а	2 ^б
1	1,64	1,63	85,30	78,50	2,58	2,6	4,13	4,92	25,56	27,69	4,54	4,53	4,73	4,67	12,76	13,89	21,79	21,69
2	1,78	1,41	79,70	84,80	2,1	2,78	4,85	4,55	23,37	28,89	3,87	4,09	4,56	4,67	10,72	11,07	20,18	20,56
3	1,55	1,25	89,10	80,90	2,78	2,11	4,63	4,23	26,24	24,47	4,30	4,77	4,27	4,43	9,98	13,35	22,72	22,71
4	1,75	1,31	84,60	87,10	2,71	3,12	4,27	4,18	28,15	24,43	3,80	3,71	4,31	4,54	11,30	13,49	22,56	21,13
5	1,24	1,2	78,30	83,10	2,62	2,13	4,44	4,58	26,58	24,62	3,92	4,50	4,47	4,31	10,52	12,88	21,56	22,33
6	1,67	1,43	78,40	89,70	2,59	3,12	4,57	4,44	23,17	26,29	4,43	4,09	4,87	4,85	13,17	11,39	21,12	22,50
7	1,72	1,75	89,60	80,90	2,03	2,22	4,30	4,81	25,28	23,36	4,26	4,58	4,30	4,80	13,50	10,56	22,12	20,32
8	1,48	1,53	87,20	86,50	2,54	2,91	4,19	5,12	25,35	28,07	4,60	3,91	5,01	4,71	11,46	14,09	20,64	22,40
9	1,45	1,65	89,60	85,90	3,18	3,12	4,73	4,71	25,75	26,63	4,71	3,98	4,64	4,56	13,72	12,60	20,57	22,37
10	1,62	1,46	78,10	90,00	2,85	2,51	4,70	4,43	24,66	24,36	3,63	4,78	4,51	4,48	11,16	11,18	22,87	21,43

а – результат анализа пробы

б – результат анализа пробы с измененной навеской

Полученные метрологические характеристики (таблица 3.9) сопоставимы с представленными авторами [81,82]. Показатель точности не превышает 25%, что позволяет использовать предлагаемую методику для исследования катехинового профиля чая.

Таблица 3.9 – Метрологические характеристики предлагаемой методики определения кофеина, катехинов и галловой кислоты

Аналит	ГКт	Кф	Кт	ЭГК	ЭГКГ	ЭКт	ГКГ	ГК	ЭКГ
Диапазон измерений, мкг/см ³	1-20	1-150	0,5-10	1-150	1-200	0,5-20	1-50	0,5-30	1-50
Показатель повторяемости r , %	8	1	10	1	8	6	5	5	4
Показатель внутрилабораторной прецизионности R , %	9	5	11	9	9	12	8	9	8
Показатель точности $\pm \delta$, %	19	12	23	19	18	24	17	21	15

Результаты апробации методики приведены в таблице 3.10.

Таблица 3.10 – Содержания кофеина, катехинов и галловой кислоты в различных образцах чая

Аналит	Содержание мг/г				
	Чай черный "Солнечная долина"	Чай черный "Рухуна"	Фиксированная флеш	Фиксированный физиологически зрезый лист	Чай зеленый "Краснодарский" (Чайная Артель ВерхнеХостовская)
ГКт	0,87±0,05	0,39±0,03	6,5±0,5	6,2±0,4	5,4±0,5
Кф	26,5±1,1	32,6±0,7	42,3±1,7	12,5±0,4	32,5±1,6
Кт	1,5±0,1	0,62±0,05	1,6±0,2	0,64±0,06	1,9±0,2
ЭГК	2,8±0,2	1,4±0,1	31,3±2,2	26,1±2,1	16,3±1,5
ЭГКГ	4,6±0,4	12,2±0,9	93±8	20,4±1,4	68±6
ЭКт	5,2±0,6	1,6±0,2	5,2±0,6	3,7±0,4	4,8±0,6
ГКГ	1,58±0,08	1,44±0,09	10,1±0,7	2,9±0,1	11,8±0,9
ГК	8,8±0,7	3,5±0,2	0,72±0,06	0,27±0,02	1,5±0,1
ЭКГ	13,1±0,7	8,0±0,5	17,5±1,1	4,1±0,2	12,6±1,0

Таким образом методика позволяет определять кофеин, катехины и галловую кислоту как в физиологически зрелом листе и флеш, так и чае различной степени ферментации.

3.2 Изучение компонентного состава чая, выращенного в условиях Краснодарского края

Чай – уникальная субтропическая культура, предъявляющая повышенные требования к климатическим и почвенным условиям.

Зона влажных субтропиков Черноморского побережья России, где возделывают чай в промышленных масштабах, отличается наиболее экстремальными почвенно-климатическими условиями по сравнению с другими регионами мира [196].

На протяжении многих лет в ГНУ ВНИИЦиСК РАСХН проводятся исследования по всестороннему изучению агротехнических приемов и условий выращивания чая; изменению минерального состава и биохимических характеристик чая от экологических факторов, сроков и способов сбора чайного листа. Учеными научного центра разработана научная концепция оптимизации плодородия бурых лесных почв и применения минеральных удобрений при выращивании чая в условиях Черноморского побережья России [196-207].

Анализ научной литературы позволил выделить следующие основополагающие положения, которые необходимо учитывать при выявлении особенностей минерального и компонентного состава красnodарского чая¹:

1. основные промышленные чайные плантации Краснодарского края заложены еще в 50-х годах прошлого века и относятся к сформированным/полновозрастным;

2. возделывания чая в условиях влажных субтропиков России отличается наиболее экстремальными почвенно-климатическими условиями по сравнению с другими регионами мира;

¹ Автор выражает глубокую благодарность д.б.н Малюковой Л. С. за оказанную помощь при обсуждении результатов

3. для культуры чая главным бонитировочным критерием является комплекс показателей кислотно-основного состояния почв, наиболее значимыми из которых является рН и степень насыщения почв основаниями;

4. лучшими чаепригодными почвами являются бурые лесные кислые, бурые лесные оподзоленные и желтоземы ненасыщенные оподзоленные почвы;

5. особенности вегетации чайного растения в условиях Краснодарского края;

6. чайные плантации засажены в основном районированным сортом Колхида, в меньшей степени встречаются сорта Каратум, Сочи и популяция чая Кимынь.

Колхида – высокоурожайный клон крупнолистового китайского чая, внесен в реестр селекционных достижений и часто используется как контроль.

Изучение минерального состава чая, выращенного в условиях Краснодарского края. Известно, что минеральный состав растительного материала отражает минеральный состав почв мест их произрастания. При этом ряд компонентов накапливаются в растениях, что обусловлено их ботаническими особенностями. В случае накопления элементов в растении состав почвы при длительном ее использовании для выращивания этой монокультуры претерпевает изменение. Изучение взаимосвязи минерального состава объекта во взаимосвязанной системе «почва – чайное растение» (в частности вегетативные органы) позволяет выделить вещества-маркеры, характерные для этой системы.

Исследования проводили на образцах чая и почв наиболее типичных продуктивных плантаций, которые расположены в трех микрорайонах выращивания Краснодарского края (таблица 3.11) [196].

Таблица 3.11 – Характеристики исследуемых плантаций [196]

Микрозона	I	III	IV
Плантации	Чайные домики верхняя (ЧДВ) и нижняя (ЧДН), Волковка, Баканеевский, Выше дуба, Опытная плантация Дагомыс	Кряж «Мацестинский чай»	Мишина «Солохаульский чай»
Высота над уровнем моря, м	-	10-500	~ 660
Тип почв	бурые лесные кислые и бурые лесные кислые оподзоленные		
Бонитет, балл	81	59	38
Урожайность, ц/га	65	47	30

Образцы свежих флешей, физиологически зрелого листа и почвы отбирали с мест произрастания чайных растений на производственных плантациях, расположенных в Краснодарском крае. Анализ минерального состава образцов проводили методом АЭС-ИСП. Определение металлов проводили при длинах волн свободных от спектральных наложений. Образцы перед определением подвергали кислотной минерализации (окислитель – азотная кислота) в микроволновой лабораторной системе Mars-6 по программе, обеспечивающей окисление матрицы. Сформированы массивы данных содержания металлов в почвах, чайном листе и флешах.

Средние концентрации содержания металлов в почвах плантаций уменьшаются в следующем порядке: $K > Al > Fe > Mg > Mn > Ca > Ti > Ba > Zn > Na > Cr > Li > Sr > Cu > Co > Ni > Pb > Cd > Mo$, и не превышают ПДК, за исключением Pb на участке ЧДН – 46 ± 14 мг/кг при нормативе не более 32 мг/кг (таблица 3.12).

Таблица 3.12 – Содержания ванадия, марганца и свинца в почвах плантаций

Металл	Концентрация, мг/кг				
	Волковка	ЧДВ	ЧДН	Дагомыс	ПДК*
V	49±15	95±28	18±5	108±32	150
Mn	682±205	429±129	1694±508	814±244	1500
Pb	25±8	8±2,4	46±14	10,8±3,2	32

* ГН 2.1.7.2041-06 Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве

Ограниченное число нормируемых показателей безопасности для почв затрудняет оценку их агропригодности для возделывания сельскохозяйственных культур, а также осложняет интерпретацию результатов при изучении изменения биоценозов под влиянием антропогенных факторов. В этом случае в качестве эталона часто используются кларки химических элементов. Главный недостаток такого подхода – большие различия в оценке кларков разными исследователями, что связано с развитием представлений о распространенности типов и групп горных пород, совершенствованием аналитических методов изучения экогеохимических объектов [208].

Сравнение средних содержаний металлов в образцах почв чайных плантаций I, III и IV микрозон показало, что относительно земной коры в агропочвах околоскларковые значения характерны для Fe, Mn, Pb и Co, остальные изучаемые элементы значительно ниже кларков (таблица 3.13).

Таблица 3.13 – Содержания металлов в кларке и почвах чайных плантаций I, III и IV микрозон выращивания

Элемент	Показатель	Микрозона			Содержание элемента в кларке ¹ , мг/кг [208]
		I	III	IV	
K	C, мг/кг	9698,7	434,1	675,2	23240***
	KP²	2,4	53,5	34,4	
	KK ²	0,42	0,02	0,03	
Ca	C, мг/кг	761	642	707	25660***
	KP²	34	40	36	
	KK ²	0,03	0,03	0,03	
Mg	C, мг/кг	6291,5	1231,3	1607,2	14950***
	KP²	2,4	12,1	9,3	
	KK ²	0,42	0,08	0,11	
Fe	C, мг/кг	36499	16969	19423	40600*
	KP²	1,1	2,4	2,1	
	KK ²	0,90	0,42	0,48	
Mn	C, мг/кг	879	777	911	770*
	KP ²	0,9	1,0	0,8	
	KK²	1,14	1,01	1,18	
Al	C, мг/кг	40384	15191	13673	76100*
	KP²	1,9	5,0	5,6	
	KK ²	0,53	0,20	0,18	

Элемент	Показатель	Микрозона			Содержание элемента в кларке ¹ , мг/кг [208]
		I	III	IV	
Zn	С, мг/кг	57,4	27,6	38,7	75*
	КР²	1,3	2,7	1,9	
	КК ²	0,76	0,37	0,52	
Na	С, мг/кг	37,4	16,4	9,5	24260****
	КР²	649	1479	2564	
	КК ²	0,0015	0,0007	0,0004	
Sr	С, мг/кг	31,5	10,4	8,7	270*
	КР²	8,6	26,0	30,9	
	КК ²	0,12	0,04	0,03	
Ba	С, мг/кг	135,5	35,3	20,3	628****
	КР²	4,6	17,8	31,0	
	КК ²	0,22	0,06	0,03	
Cu	С, мг/кг	16,1	16,0	16,3	27**
	КР²	1,7	1,7	1,7	
	КК ²	0,60	0,59	0,60	
Ni	С, мг/кг	16,0	11,0	13,8	50*
	КР²	3,1	4,6	3,6	
	КК ²	0,32	0,22	0,28	
Pb	С, мг/кг	17,6	19,6	13,6	17*
	КР ²	1,0	0,9	1,2	
	КК ²	1,04	1,15	0,80	
Cr	С, мг/кг	43,8	22,7	18,9	92*
	КР²	2,1	4,0	4,9	
	КК ²	0,48	0,25	0,21	
Ti	С, мг/кг	320,2	13,7	17,3	3900*
	КР²	12,2	284,0	226,0	
	КК ²	0,082	0,004	0,004	
Co	С, мг/кг	16,3	7,7	10,1	15**
	КР²	0,9	2,0	1,5	
	КК ²	1,1	0,5	0,7	

1. Содержание элемента в кларке по: * Григорьеву Н.А., **Z. Нц, S. Gao, *** R.L. Rudnick, S. Gao

2. КК (кларк концентрации) = С/К; КР (кларк рассеяния) = К/С, где

С - содержание элемента в почвах, мг/кг;

К - кларк элемента в верхней части континентальной земной коры, мг/кг.

Изучение изменения содержания металлов в почвах от глубины отбора проб проводили на образцах почв 4 плантаций Волковка, Дагомыс, Чайные домики верхняя и нижняя плантации, отобранных в трех точках послойно: 0–20, 20–40 и 40–60 см. Для каждого изучаемого компонента результаты анализа объединили в выборки по глубине слоя отбора почвы.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса. Расчитанные значения критерия не превышали его критического значения, что свидетельствует о равенстве медиан выборок и отсутствии статистически значимой разницы между выборками. Это позволяет производить отбор из верхних слоев почвы 0-40см (таблица 3.14). Необходимо отметить, что этот слой является и основным корнеобитаемым слоем чайного куста [196].

Таблица 3.14 – Результаты теста Краскела-Уоллиса

Металл	Н*				Металл	Н*				Металл	Н*			
	В	ДЧ	ЧДВ	ЧДН		В	ДЧ	ЧДВ	ЧДН		В	ДЧ	ЧДВ	ЧДН
К	2,49	5,96	0,69	4,36	Na	1,69	5,96	0,36	1,69	Li	5,96	5,42	1,87	3,82
Ca	5,42	4,36	3,28	5,96	Sr	5,42	5,42	4,60	5,96	V	1,87	5,96	0,62	3,47
Mg	3,29	5,96	2,76	1,69	Ba	0,27	2,49	0,88	3,47	Ti	4,36	0,62	5,96	5,96
Fe	4,36	5,96	1,87	1,42	Cu	1,16	5,96	3,20	5,42	Co	3,47	2,49	2,22	5,42
Mn	3,82	5,60	2,4	5,96	Ni	5,96	5,96	3,47	3,82	Cd	3,29	5,96	5,96	4,36
Al	3,82	5,96	5,97	1,07	Pb	5,47	1,87	2,48	2,40	Mo	5,96	5,56	1,77	5,96
Zn	2,22	5,96	0,36	3,47	Cr	1,16	1,42	0,61	1,87					

*Н – значение критерия Краскалла-Уолисса, $N_{крит} 5,99$ ($p=0,5$)

Рассматриваемые чайные плантации являются сформированными, о чем свидетельствует изменение в них содержания металлов по сравнению с содержанием металлов в фоне, в качестве которого принята почва прилегающих лесных участков. (таблица 3.15 на примере плантаций из I (пл. Баканеевский) и III (пл. Мишина) микрозоны).

Таблица 3.15 – Содержания металлов в почвах плантаций и прилегающего фона плантаций Баканеевский и Мишина

Металл	Концентрация, мкг/г			
	пл. Баканеевский		пл. Мишина	
	Участок	Фон	Участок	Фон
К	5702±1711	8401±2520	5985±1796	11548±3464
Ca	29674±8902	69507±20852	33616±10085	66857±20057
Mg	3648±1094	5242±1573	3914±1174	6920±2076
Fe	32332±9700	35417±10625	30924±9277	37606±11282
Mn	1542±463	2892±868	1461±438	2610±783
Al	38088±11426	41318±12395	39199±11760	44990±13497

Металл	Концентрация, мкг/г			
	пл. Баканеевский		пл. Мишина	
	Участок	Фон	Участок	Фон
Zn	44±13	56±17	55±17	64±19
Na	34±10	36±11	35±10	43±13
Sr	24,5±7,4	27,2±8,2	24,1±7,2	25,3±7,6
Ba	115±34	120±36	116±35	142±43
Cu	5,9±1,8	7,7±2,3	10,3±3,1	11,7±3,5
Ni	13,8±4,2	17,9±5,4	18,1±5,4	21,5±6,5
Pb	29,0±8,7	29,2±8,8	24,5±7,3	19,1±5,7
Cr	58±17	69±21	62±19	74±22
Li	22,1±6,6	25,1±7,5	23,9±7,2	20,8±6,3
V	84±25	108±32	83±25	108±32
Ti	308±92	283±85	266±80	223±67
Co	25,7±7,7	37,7±11,3	22,7±6,8	25,4±7,6
Cd	1,5±0,5	1,8±0,5	1,5±0,5	1,9±0,6
Mo	0,5±0,1	0,3±0,1	0,5±0,1	0,3±0,1

Показано, что в почвах чайных плантаций практически не изменяются содержания Al, Na, Sr, Ba, Cu, Pb, Cr, Li, Ti ($0,9 \leq C_{\text{Металл}} / C_{\text{Металл фон}} \leq 1,1$) для K, Ca, Mg, Fe, Mn, Co наблюдается тенденция к уменьшению содержаний, а для Mo увеличение по сравнению с их содержанием в фоне (рисунок 3.8).

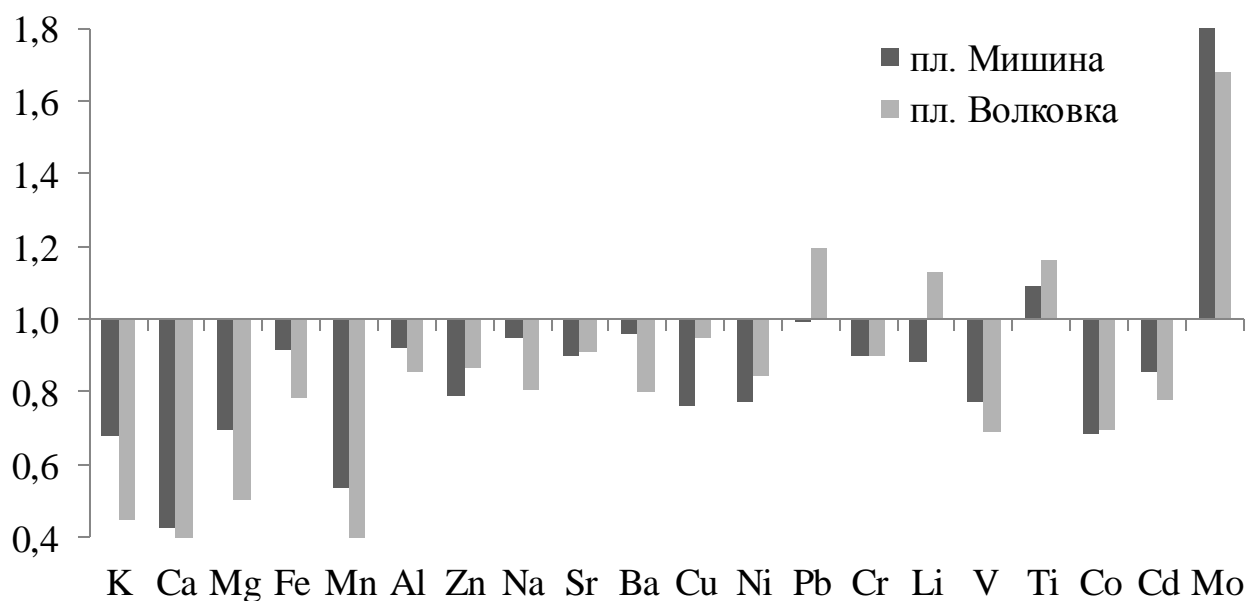


Рисунок 3.8 – Отношение концентраций металлов в почве чайных плантаций и прилегающего фона

Способность чайных листьев к накоплению металлов из почвы оценивали с использованием объединенных данных содержаний металлов в образцах физиологически зрелых листьев, флешей и почв выращивания на примере плантаций Волковка, Дагомыс, ЧДВ и ЧДН.

Для этой цели провели анализ коэффициентов биоаккумуляции (КБА) металлов в системе почва:физиологически зрелый лист:флешь, рассчитанных как отношение концентрации металлов (мкг/г) в чайных листьях к концентрации металлов в почве. Полученные значения КБА уменьшаются в следующем порядке:

$\text{КБА}_{\text{флешь}}: \text{Ca} (7,1) > \text{Mn} (2,9) > \text{K} (1,6) > \text{Sr} (1,1) > \text{Mo} (0,4) = \text{Zn} (0,4) > \text{Mg} (0,4) > \text{Na} (0,3) = \text{Ni} (0,3) > \text{Ba} (0,2) = \text{Cu} (0,2) > \text{Pb} (0,05) > \text{Co} (0,02) = \text{Al} (0,02) > \text{Ti} (0,01) = \text{Cr} (0,01) = \text{Li} (0,01) = \text{Cd} (0,01) > \text{Fe} (0,001)$

$\text{КБА}_{\text{физ.зр.лист}}: \text{Ca} (10,6) > \text{Mn} (4,5) > \text{K} (1,4) > \text{Sr} (1,2) > \text{Mg} (0,3) = \text{Ba} (0,3) = \text{Cu} (0,3) = \text{Na} (0,3) > \text{Zn} (0,2) = \text{Ni} (0,2) = \text{Mo} (0,2) > \text{Pb} (0,09) > \text{Al} (0,08) > \text{Ti} (0,03) > \text{Cr} (0,02) = \text{Co} (0,02) > \text{Li} (0,01) > \text{Cd} (0,01) > \text{Fe} (0,002).$

Установлена высокая аккумуляция К, Са, Мп и Sr во флешах и физиологически зрелом листе ($\text{КБА} > 1$). Кроме того, показано, что для флешей характерно накопление К, Zn, Mg, Co, Ni и Mo по сравнению со зрелым листом, в то время как со старением чайного листа увеличиваются содержания Са, Мп, Sr, Ba, Cu, Pb, Al, Ti, Cr и Fe. Гистограммы содержания Са, Zn, Ba во флешах, физиологически зрелом листе и почве представлены на рисунке 3.9.

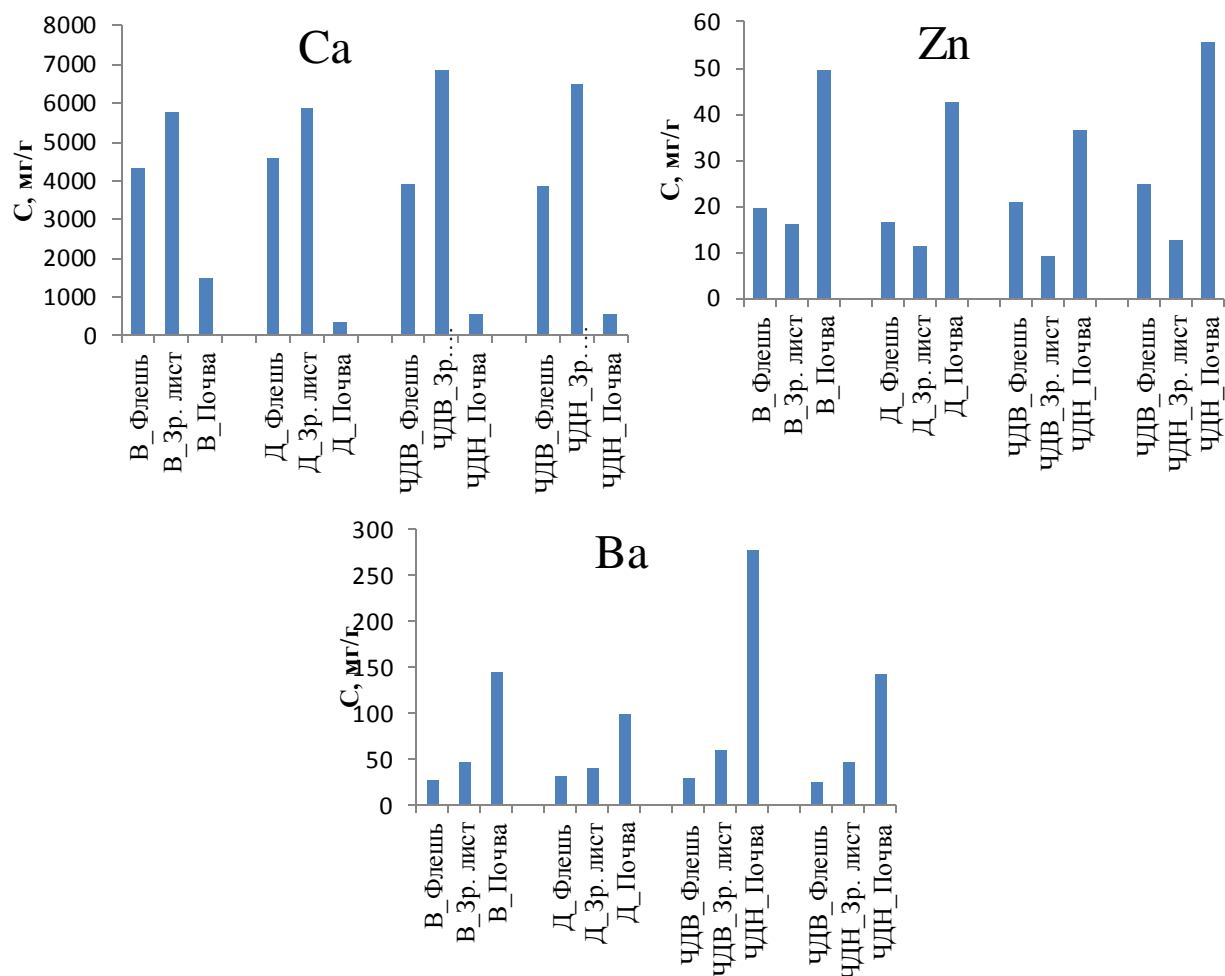


Рисунок 3.9 – Гистограммы содержания Ca, Zn, Ba во флеши, зрелом листе и почве

Изменение минерального состава краснодарского чая, выращенного в различных микрорайонах изучили с применением метода главных компонент с проекцией на латентные структуры в условиях ограниченного количества образцов. Проекция образцов на факторную плоскость показали, что почвы I, III и IV микрорайоны отличаются по содержанию Co, Ba, Mo, Ti, Na, Ni и Cu, а образцы чая – Ba, Na, Ni и Mg (рисунок 3.10 7 (а) и (б)). Как видно, в выделенных компонентах почв и чая есть 3 общих элемента и вероятно, содержания Ba, Na и Ni могут входить в перечень веществ-маркеров для определения микрорайона произрастания краснодарского чая.

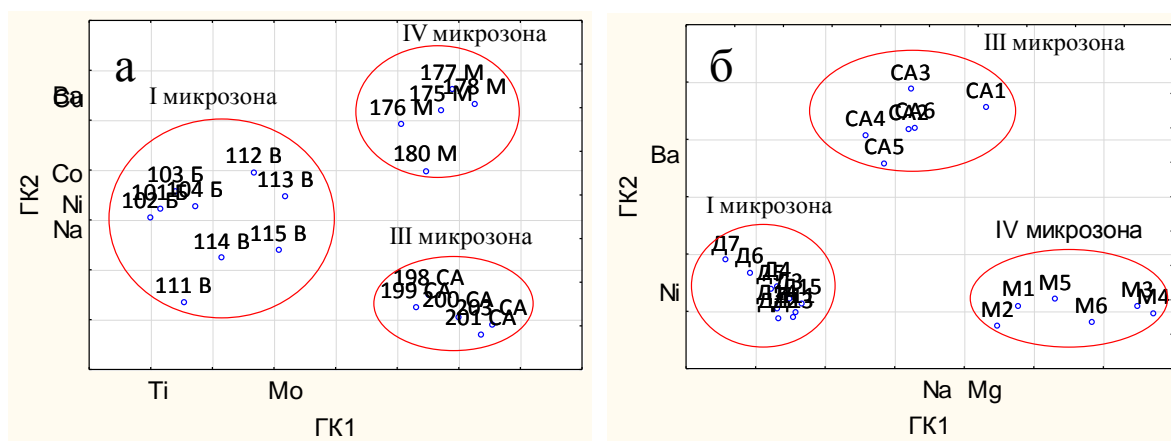


Рисунок 3.10 – Проекция на факторную плоскость образцов (а) почвы и (б) чая различных микрозон выращивания

Описательные характеристики содержаний Ва, Na и Ni в образцах чая и почвы представлены в таблице 3.16

Таблица 3.16 – Значения среднего, минимума, максимума и коэффициента вариации для Na, Ва, Ni, в группах чая различных микрозон выращивания

Элемент	ЗАО "Дагомысчай" I микрозона							
	Почва N=5				Чай N=10			
	Сред., мкг/г	Мин., мкг/г	Макс., мкг/г	Коэф. Вар.	Сред., мкг/г	Мин., мкг/г	Макс., мкг/г	Коэф. Вар.
Na	33,9	23,3	42,9	20	11,19	7,6	15,7	30
Ba	115	85	147	19	4,15	3,2	5,05	16
Ni	16,6	12,9	24,0	24	8,79	7,4	12,1	18
Элемент	ОАО "Мацестинский чай" IV микрозона							
	Почва N=5				Чай N=6			
	Сред., мкг/г	Мин., мкг/г	Макс., мкг/г	Коэф. Вар.	Сред., мкг/г	Мин., мкг/г	Макс., мкг/г	Коэф. Вар.
Na	39,5	37,0	40,9	4	10,8	7,4	13,8	26
Ba	95,6	80,9	104,2	10	29,4	19,8	39,0	28
Ni	22,0	14,9	27,4	23	4,2	3,0	4,8	18
Элемент	ОАО "Солохаульский чай" III микрозона							
	Почва N=9				Чай N=6			
	Сред., мкг/г	Мин., мкг/г	Макс., мкг/г	Коэф. Вар.	Сред., мкг/г	Мин., мкг/г	Макс., мкг/г	Коэф. Вар.
Na	41,3	37,4	47,9	10	19,3	15,2	26,8	22
Ba	87,9	82,8	98,1	7	8,8	5,9	10,7	22
Ni	24,1	21,5	26,9	10	6,9	6,4	7,9	8

Установление полного перечня характеристичных веществ-маркеров определения микрзоны выращивания Краснодарского чая требует дополнительных исследований с привлечением большего количества образцов.

3.3 Исследования взаимосвязи характеристик черного чая различного региона произрастания

Выявление особенностей состава Краснодарского чая проводили, сравнивая аналогичные характеристики для чая различных регионов произрастания. При формировании массива данных группирующей переменной являлось происхождение чая, а зависимыми переменными – содержания металлов (I), содержания кофеина, катехинов и галловой кислоты (II) и суммарный показатель железовосстанавливающая способность (ЖВС) (III).

Из изученных металлов Pb и Cd входят в перечень показателей безопасности пищевых продуктов РФ и содержание этих элементов во всех исследуемых образцах на порядок ниже установленных допустимых уровней (Pb – 10 мг/кг, Cd – 1 мг/кг). Законом о предотвращении фальсификации пищевых продуктов Индии установлены пределы допуска для Cu и Pb – 150 и 10 мг/кг соответственно. Полученные нами уровни содержаний данных металлов в группах индийского и ассамского чая не превышают пределы допуска [49].

В ряде иностранных статей приводятся данные элементного состава чая, которые позволили сопоставить наши результаты с литературными данными (таблица 3.17). Полученные нами результаты о минеральном составе чая различных регионов произрастания удовлетворительно согласуются с литературными данными.

Таблица 3.17 – Содержания металлов в образцах черного чая различного региона произрастания

Элементы	Содержания мг/кг							
	Ассамский		Цейлонский		Кенийский		Китайский	
K	16022-17654	20264	14627-16700	19442	14607-17196	17385	12263-14840	17634
Ca	3862-4540	4584	3335-4906	3804	2991-3263	3773	2399-5630	3558
Mg	1906-2127	2200	1571-2203	1951	1611-2124	1989	1178-2623	2031
Al	474-510	764	510-915	665	593-704	634	329-2230	652
Mn	431-734	879	148-531	384	798-875	946	611-1595	660
Fe	90-108	88	74-142	78	247-282	128	23,5-946	106
Ba	5,2-33,3	29,3	7,3-20,3	10,9	12,8-15,3	25,5	6,5-24	16,1
Na	37,9-76,4	8,9	44-70	42	31,7-42,9	10,3	31,2-349	14
Zn	23,9-31,3	24,3	20,0-39,5	16,9	24,4-26,9	22	27-106	27,4
Cu	15,5-28,4	16,8	17,6-26,5	12,2	11,1-11,8	17,3	11,9-37,5	15,5
Sr	15,9-18,5	14,2	7,2-23,3	13,3	38,0-38,7	48,1	7,0-23,1	11,7
Источник	209, 173	Полученные данные	209, 173, 153	Полученные данные	209, 173	Полученные данные	209, 99, 153, 173, 174	Полученные данные

Проведена оценка необходимых растениям концентраций микроэлементов в соответствии с интервалами концентрации микроэлементов в зрелых тканях листьев по обобщенным данным для многих видов А. Кабата Пендиас, Х. Пендиа [210]. В среднем во всех исследуемых группах чая можно отметить избыточное содержание Mn, что является характерным для данного растения, достаточную обеспеченность по Cu, Ni, Cr и Co, а также дефицит Mo. В цейлонской группе образцов чая существует дефицит Zn, при достаточном уровне этого элемента в группах чая других исследуемых регионов произрастания.

Взаимодействие химических элементов имеет такое же значение для физиологии растений, как явления дефицита и токсичности. Взаимодействие между химическими элементами может быть антагонистическим или

синергическим, и его несбалансированные реакции могут служить причиной химических стрессов у растений [210]. Рассмотрение взаимосвязи между макро- и микроэлементами в исследуемых образцах чая, позволили выявить тенденции к антагонистическим взаимодействиям К с Мо и Мп, а так же Са с Ni и Pb, значения коэффициентов корреляции представлены в таблице 3.18. Подобные антогонистические влияния макрокомпонентов на микрокомпоненты для чая не считаются общеизвестными и мало описаны в литературе.

Таблица 3.18 – Значения коэффициентов корреляции Пирсона

Макроэлемент	К		Са	
	Мо	Мп	Ni	Pb
Антагонизм с микроэлементом				
Весь массив	-0,33*	-0,22*	-0,22*	-0,24*
Ассамский	-0,17	-0,08	-0,65*	-0,57*
Индийский	-0,37	-0,04	-0,13	-0,10
Кенийский	-0,03	-0,12	-0,46*	-0,57*
Краснодарский	-0,79*	-0,97*	0,20	-0,70*
Китайский	-0,27	-0,68*	-0,46	-0,75*
Цейлонский	-0,16	-0,70*	-0,41*	-0,50*

При рассмотрении массива данных компонентов органической природы, включающего содержания кофеина, катехина, эпигаллокатехин галлата, эпикатехина и галловой кислоты в экстрактах чая различного региона произрастания можно отметить некоторые концентрационные отличия краснодарского чая (Приложение Б).

Так, содержание ЭГК и ЭКГ в образцах краснодарского чая в 7,7 и 1,3 раза выше, чем в образцах китайского чая, соответственно; по сравнению с образцами чая других регионов произрастания концентрация ЭКГ в 1,5 раза ниже. Так же концентрация ГК в среднем примерно в 1,5 раза выше, а ЭГКГ ниже, чем в образцах чая остальных исследуемых групп.

Проведена оценка ЖВС образцов черного чая различных регионов произрастания (таблица 3.19). Как видно, по величине ЖВС образцы чая

располагаются в ряд (в порядке уменьшения ЖВС) кенийский > цейлонский > индийский > ассамский > китайский > краснодарский.

Таблица 3.19 – Результаты оценки ЖВС образцов черного чая

Регион произрастания	ЖВС ₆₀ , мМ ГК/г		
	Медиана	Минимум	Максимум
Ассамский (N 14)	0,32	0,35	0,24
Индийский (N 14)	0,31	0,34	0,29
Цейлонский (N 29)	0,36	0,40	0,33
Кенийский (N 15)	0,40	0,47	0,35
Краснодарский (N 16)	0,20	0,26	0,12
Китайский (N 9)	0,26	0,30	0,17

Для этих же образцов определены содержания катехинов и ГК. Показано, что величины ЖВС, определенные методом FRAP с индикаторной системой Fe (III)-ортофенантролин, удовлетворительно закоррелированы (рисунок 3.11) с суммарным содержанием катехинов и ГК ($r=0,55$ и $0,53$, умеренная степень связи).

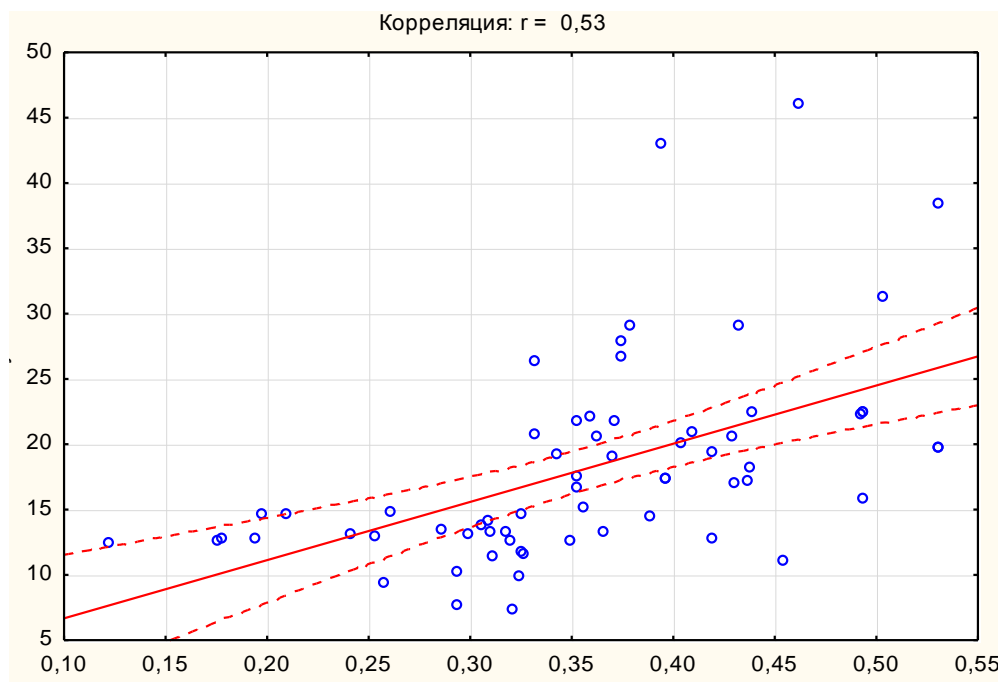


Рисунок 3.11 – Результаты корреляционного анализа величин ЖВС чая и суммарного содержания катехинов и ГК

Для краснодарского, кенийского и китайского чая установлена умеренная отрицательная корреляция показателя ЖВС с соотношением

питательных элементов K/Zn (r 0,4-0,5), K/Fe (r 0,4-0,7) и K/Cu (r 0,4-0,8), что согласуется с данными [197].

По минеральному составу краснодарский чай характеризуется:

1. минимальными содержаниями Al, Ba, Sr и Ti и максимальным для Co.

2. содержания Cu и Ni близки, а в образцах других регионов произрастания отношение этих элементов составляет 2,5 – 3.

3. Отношение содержаний Mg/Al для краснодарского чая составляет 7,8, в то время как для образцов из Индии – 2, а для чая остальных групп – около 3.

Кенийский же чай отличается высокими содержаниями Sr и Ti и минимальным для Co, относительно других исследуемых регионов произрастания.

Лепестковые диаграммы, построенные по медианам концентраций компонентов, демонстрируют различие визуальных образов для образцов краснодарского (а), ассамского (б), индийского (в), кенийского (г), китайского (д) и цейлонского (е) черного байхового чая (рисунок 3.12).

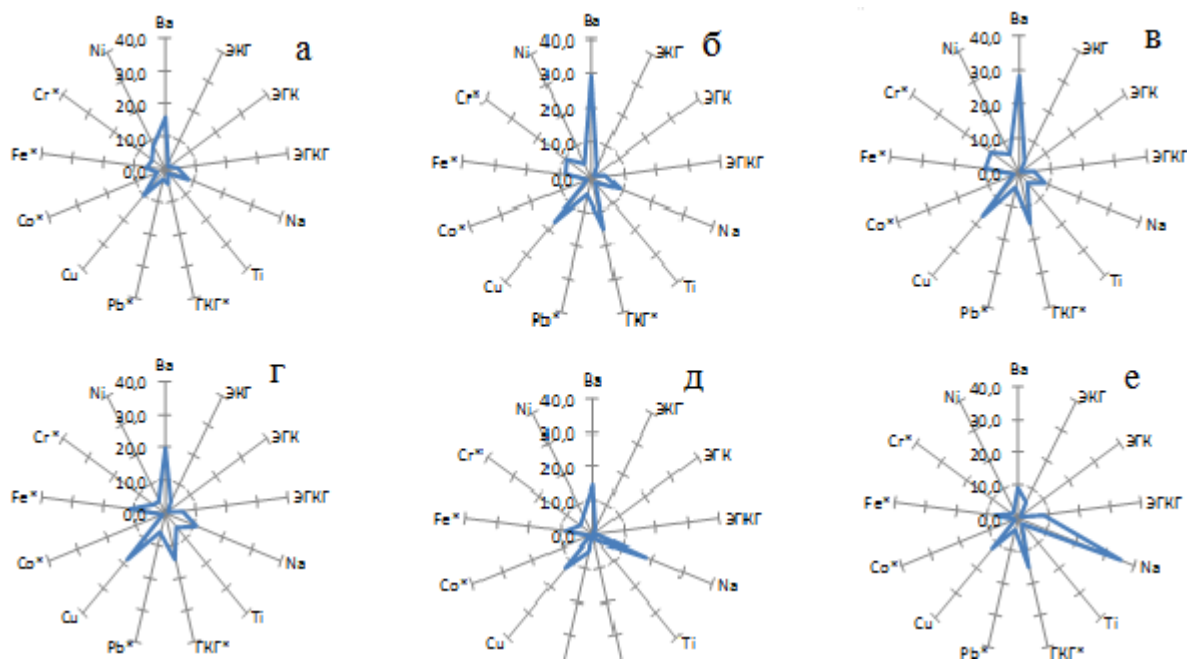


Рисунок 3.12 – Лепестковые диаграммы, построенные на основе медиан содержаний компонентов

Коэффициент вариации является важным показателем, отражающим взаимосвязь между средним значением и дисперсией. Содержание большинства компонентов чая в объединенном массиве имеют относительно высокие коэффициенты вариации. Это указывает на то, что эти элементы могут использоваться в качестве характерных компонентов для классификации исследуемых регионов происхождения чая (таблица 3.20)

Таблица 3.20 – Коэффициент вариации содержания металлов, органических компонентов и величины ЖВС в группах чая различного региона произрастания

Компонент	Цейлон (N=24)	Ассам (N=14)	Индия (N=15)	Кения (N=16)	Краснодар (N=26)	Китай (N=20)	Все группы (N=115)
К, мг/г	11	11	8	13	16	17	24
Ca, мг/г	13	9	17	18	26	23	31
Mg, мг/г	8	8	19	11	10	14	22
Al, мг/г	24	22	25	27	30	43	47
Mn, мг/г	27	13	25	23	25	33	36
Fe, мкг/г	21	24	29	26	28	39	43
Ba, мкг/г	32	15	22	27	28	29	55
Na, мкг/г	34	22	26	28	29	29	84
Zn, мкг/г	10	10	12	21	17	22	25
Cu, мкг/г	9	14	19	27	11	29	28
Ni, мкг/г	27	24	34	29	31	26	46
Sr, мкг/г	18	17	23	22	33	29	84
Ti, мкг/г	21	23	25	27	30	30	61
Cr, мкг/г	17	20	24	27	34	29	63
Pb, мкг/г	27	21	28	31	32	30	40
Co, мкг/г	33	24	25	30	32	36	60
Li, мкг/г	28	16	21	25	28	30	35
Cd, мкг/г	30	25	28	32	34	34	53
Mo, мкг/г	27	18	18	28	35	35	39
Компонент	Цейлон (N=35)	Ассам (N=16)	Индия (N=20)	Кения (N=14)	Краснодар (N=23)	Китай (N=9)	Все группы (N=117)
ГКТ, мг/г	18	16	15	10	10	29	123
Кф, мг/г	21	15	16	12	17	12	23
КТ, мг/г	30	22	22	15	16	15	45
ЭГК, мг/г	29	28	28	20	15	19	38
ЭГКГ, мг/г	16	13	13	10	8	4	38
ЭКТ, мг/г	23	24	22	15	19	14	40
ГКГ, мг/г	25	20	24	14	14	12	35
ГК, мг/г	25	21	19	14	13	12	27
ЭКГ, мг/г	18	15	14	9	5	4	33

Компо- нент	Цейлон (N=29)	Ассам (N=14)	Индия (N=14)	Кения (N=15)	Краснодар (N=16)	Китай (N=9)	Все группы (N=97)
ЖВС, мМ ГК/г	31,2	33,9	34,9	32,9	28,2	27,7	38,6

3.4 Подходы к установлению региональной принадлежности черного чая

Общий алгоритм (рисунок 3.13) классификации чая по региональной принадлежности состоял из формирования матриц исходных данных, проверке нормальности распределения, выявления значимых характеристик на основе результатов дисперсионного анализа и последующей обработке массива значимых характеристик дискриминантным анализом или методом главных компонент. Вышеуказанные процедуры реализованы в пакете Statsoft Statistica 10.

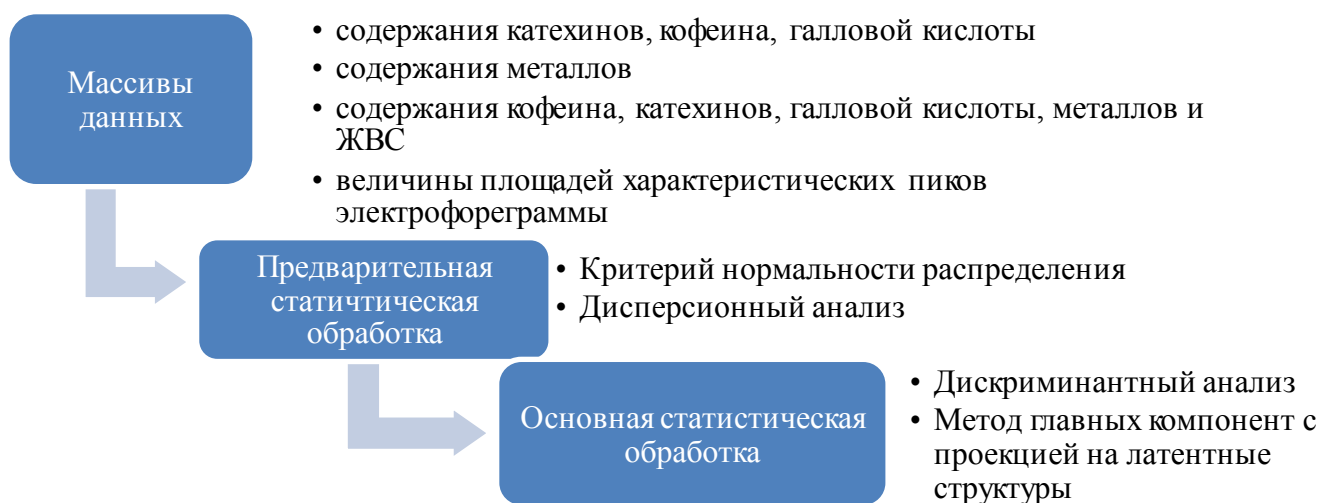


Рисунок 3.13 – Алгоритм обработки данных

Классификация черного чая по региональной принадлежности на основе концентрационного профиля экстракта чая

Сформированы три исходных массива данных включающих содержания: 1) кофеина, катехинов и галловой кислоты; 2) К, Са, Mg, Al, Mn, Fe, Ва, Na, Zn, Cu, Ni, Sr, Ti, Cr, Pb, Co, Li, Si, Cd, Мо (Приложение Б) 3)

объединенный массив концентраций катехинов, металлов и ЖВС образцов чая. Обработку массивов проводили методом дискриминантного анализа, в котором концентрации исследуемых компонентов выступали в качестве дескрипторов, а регион произрастания – группирующей переменной. Получены 3 модели: для первой модели в качестве значимых дескрипторов определены все исследуемые органические компоненты; для второй модели – Al, Fe, Ba, Na, Ti, Cr, Pb, Li,; а для совместной модели – Sr, Cr, Mo, Mg, Cd, Ti, Li, Ba, Ni, Ca, Mn, ГКТ, ГКГ, КТ и АОА.

Для каждой модели получены классификационные функции, на основе расчёта которых возможно определение региона произрастания:

Модель 1:

$$\Phi K_A = 4,6 C_{ГКТ} + 1,1 C_{Кф} + 2,8 C_{КТ} - 1,2 C_{ЭГК} + 3,2 C_{ЭГКГ} + 7,2 C_{ЭКТ} + 150 C_{ГКГ} - 4,1 C_{ГК} + 2,9 C_{ЭГК} - 49$$

$$\Phi K_{И} = 4,7 C_{ГКТ} + 0,7 C_{Кф} + 15 C_{КТ} - 2,9 C_{ЭГК} + 5,1 C_{ЭГКГ} + 2,2 C_{ЭКТ} + 102 C_{ГКГ} - 2,3 C_{ГК} + 3,3 C_{ЭГК} - 44$$

$$\Phi K_{Ц} = 4,0 C_{ГКТ} + 0,8 C_{Кф} + 6,9 C_{КТ} - 5,9 C_{ЭГК} + 8,3 C_{ЭГКГ} + 5,3 C_{ЭКТ} + 102 C_{ГКГ} - 4,9 C_{ГК} + 5,3 C_{ЭГК} - 69$$

$$\Phi K_{Кр} = 3,9 C_{ГКТ} + 1,0 C_{Кф} + 16 C_{КТ} + 13 C_{ЭГК} + 0,8 C_{ЭГКГ} + 4,1 C_{ЭКТ} + 90 C_{ГКГ} + 6,8 C_{ГК} - 5,1 C_{ЭГК} - 47$$

$$\Phi K_{Кен} = 2,8 C_{ГКТ} + 0,4 C_{Кф} + 56 C_{КТ} - 6,6 C_{ЭГК} + 5,8 C_{ЭГКГ} + 19 C_{ЭКТ} + 87 C_{ГКГ} - 2,5 C_{ГК} + 0,7 C_{ЭГК} - 80$$

$$\Phi K_{Кит} = 41 C_{ГКТ} + 0,6 C_{Кф} + 7,2 C_{КТ} - 7,7 C_{ЭГК} - 1,1 C_{ЭГКГ} + 5,5 C_{ЭКТ} + 3,5 C_{ГКГ} + 2,9 C_{ГК} + 2,5 C_{ЭГК} - 93$$

Модель 2:

$$\Phi K_A = 0,007 Al + 0,02 Mn - 0,12 Fe + 1,2 Ba + 0,12 Na + 2,7 Ti + 24,3 Cr + 32 Pb + 48 Li - 52$$

$$\Phi K_{И} = 0,02 Al + 0,014 Mn - 0,12 Fe + 1,01 Ba + 0,08 Na + 5,1 Ti + 25,3 Cr + 27 Pb + 60 Li - 58$$

$$\Phi K_{Кен} = 0,004 Al + 0,03 Mn - 0,03 Fe + 1,1 Ba + 0,12 Na + 8,5 Ti - 15,5 Cr + 48 Pb + 42 Li - 66$$

$$\Phi K_{\text{Кр}} = -0,007 \text{ Al} + 0,03 \text{ Mn} - 0,01 \text{ Fe} + 0,07 \text{ Ba} + 0,26 \text{ Na} + 0,72 \text{ Ti} - 0,83 \text{ Cr} + 18,8 \text{ Pb} + 85 \text{ Li} - 19,1$$

$$\Phi K_{\text{Кит}} = 0,008 \text{ Al} + 0,017 \text{ Mn} + 0,0006 \text{ Fe} + 0,33 \text{ Ba} + 0,23 \text{ Na} + 3,65 \text{ Ti} + 4,4 \text{ Cr} + 28,4 \text{ Pb} + 80 \text{ Li} - 31$$

$$\Phi K_{\text{И}} = -0,013 \text{ Al} + 0,01 \text{ Mn} + 0,02 \text{ Fe} + 0,18 \text{ Ba} + 0,78 \text{ Na} + 2,83 \text{ Ti} - 9,15 \text{ Cr} + 22,1 \text{ Pb} + 60 \text{ Li} - 34$$

Модель 3:

$$\Phi K_{\text{А}} = 70 \text{ АОА60} + 24 \text{ ГКТ} - 31 \text{ КТ} + 14,5 \text{ ГКГ} + 0,015 \text{ Ca} + 0,074 \text{ Mg} + 0,018 \text{ Mn} + 0,018 \text{ Ba} - 1,2 \text{ Ni} + 4,2 \text{ Sr} - 0,9 \text{ Ti} + 20,1 \text{ Cr} - 80 \text{ Li} + 157 \text{ V} + 164 \text{ Mo} + 608 \text{ Cd} - 158$$

$$\Phi K_{\text{И}} = 65 \text{ АОА60} + 25 \text{ ГКТ} - 23 \text{ КТ} + 12,5 \text{ ГКГ} + 0,019 \text{ Ca} + 0,067 \text{ Mg} + 0,013 \text{ Mn} - 1,4 \text{ Ba} - 4,7 \text{ Ni} + 0,2 \text{ Sr} + 2,1 \text{ Ti} + 14 \text{ Cr} - 72 \text{ Li} + 276 \text{ V} + 85 \text{ Mo} + 529 \text{ Cd} - 165$$

$$\Phi K_{\text{КН}} = 44 \text{ АОА60} + 30 \text{ ГКТ} - 14 \text{ КТ} + 8,4 \text{ ГКГ} + 0,006 \text{ Ca} + 0,074 \text{ Mg} + 0,028 \text{ Mn} - 0,5 \text{ Ba} + 1,7 \text{ Ni} + 2,6 \text{ Sr} + 4,7 \text{ Ti} + 11 \text{ Cr} - 294 \text{ Li} + 319 \text{ V} + 575 \text{ Mo} + 384 \text{ Cd} - 232$$

$$\Phi K_{\text{Кр}} = 52 \text{ АОА60} + 18 \text{ ГКТ} - 33 \text{ КТ} - 0,5 \text{ ГКГ} + 0,017 \text{ Ca} + 0,075 \text{ Mg} + 0,037 \text{ Mn} - 1,6 \text{ Ba} + 7,0 \text{ Ni} + 0,5 \text{ Sr} - 5,1 \text{ Ti} - 3,6 \text{ Cr} + 7,9 \text{ Li} + 86 \text{ V} + 223 \text{ Mo} + 1096 \text{ Cd} - 168$$

$$\Phi K_{\text{КТ}} = 75 \text{ АОА60} + 68 \text{ ГКТ} - 51 \text{ КТ} - 9,3 \text{ ГКГ} + 0,021 \text{ Ca} + 0,1 \text{ Mg} + 0,007 \text{ Mn} - 1,7 \text{ Ba} + 3,6 \text{ Ni} + 0,34 \text{ Sr} + 2,6 \text{ Ti} + 24,4 \text{ Cr} - 258 \text{ Li} + 313 \text{ V} + 247 \text{ Mo} + 1095 \text{ Cd} - 305$$

$$\Phi K_{\text{КТ}} = 81 \text{ АОА60} + 21 \text{ ГКТ} - 13 \text{ КТ} + 22,7 \text{ ГКГ} + 0,019 \text{ Ca} + 0,06 \text{ Mg} + 0,004 \text{ Mn} - 2,1 \text{ Ba} + 3,5 \text{ Ni} + 0,086 \text{ Sr} + 3,4 \text{ Ti} - 2,9 \text{ Cr} - 5,2 \text{ Li} + 176 \text{ V} + 44 \text{ Mo} + 261 \text{ Cd} - 135$$

На основе классификационных функций построены диаграммы рассеяния канонических значений. В модели 1 образцы краснодарского и китайского чая локализованы от всех исследуемых групп; индийский, ассамский и цейлонский чай сформировали единую область с минимальной удалённостью от группы китайского чая (рисунок 3.13). В модели на основе минерального состава все группы имеют близкую локализацию с перекрытием областей (рисунок 3.14). Диаграмма рассеяния совместной

модели показала высокую отдаленность образцов кенийского чая, от всех исследуемых групп, группы краснодарского и китайского чая имеют минимальную отдалённость, а индийский и ассамский чай сформировали единую область (рисунок 3.15).

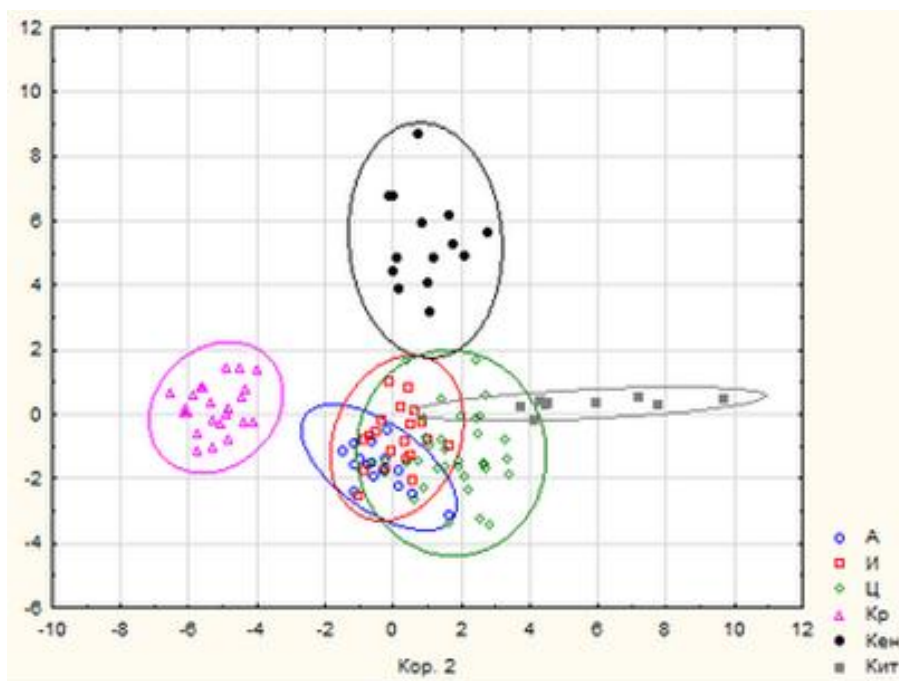


Рисунок 3.13 – Диаграмма рассеяния канонических значений модели 1 для групп чая различного региона произрастания

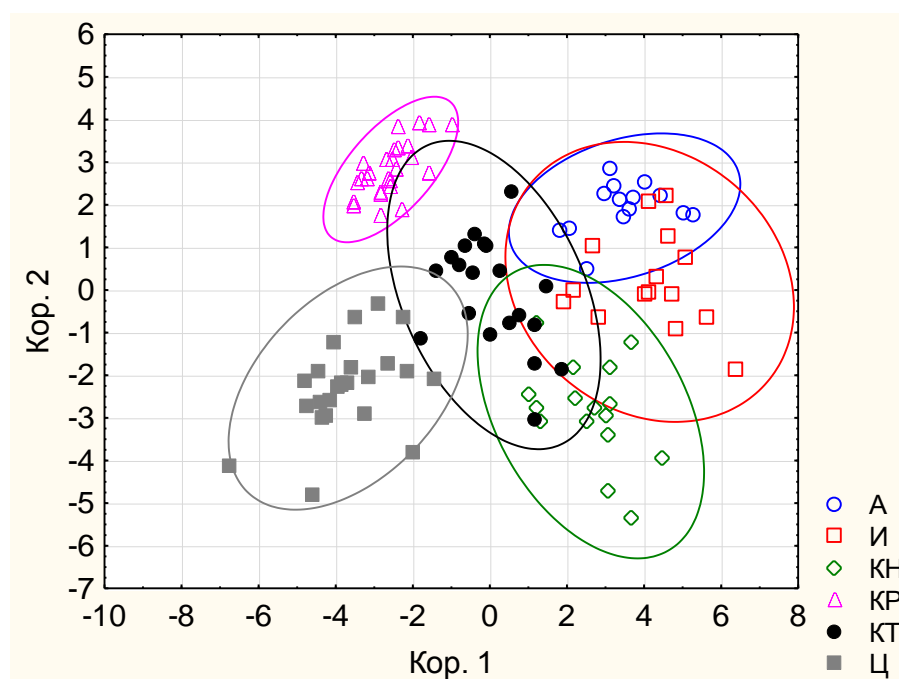


Рисунок 3.14 – Диаграмма рассеяния канонических значений модели 2 для групп чая различного региона произрастания

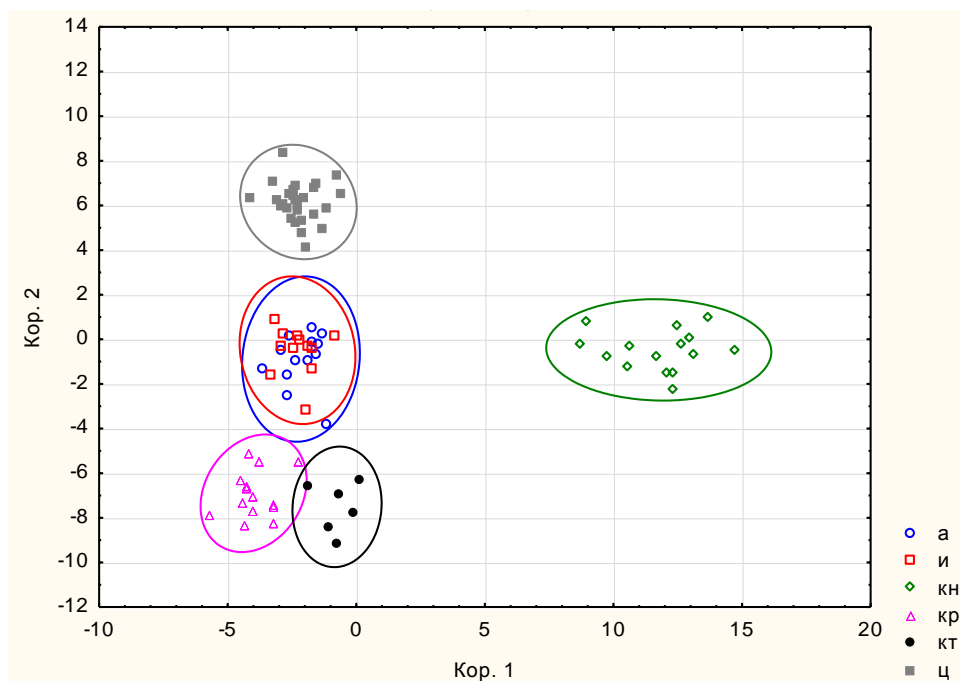


Рисунок 3.15 – Диаграмма рассеяния канонических значений модели 3 для групп чая различного региона произрастания

Проверку правильности полученных моделей проводили с использованием алгоритма кросс-валидации, общий процент правильной классификации для модели 1 составил 92,3%, модели 2 – 96,5%, модели 3 – 98,9% (таблица 3.21)

Таблица 3.21 – Результаты проверки моделей

Модель	Результат классификации	Регион произрастания						Итог
		А	И	Ц	Кр	Кен	Кит	
1	Верно	14	17	31	23	14	9	108
	Неверно	1 И; 1Ц	2А; 3Ц	2И	0	0	0	7
	Правильность, %	87,5	85,0	88,6	100	100	100	92,3
	N	16	22	33	23	14	9	117
2	Верно	13	13	24	26	16	19	111
	Неверно	1 И	2 А	0	0	0	1Кен	4
	Правильность, %	92,9	86,7	100	100	100	95	96,5
	N	14	15	24	26	16	20	151
3	Верно	13	11	27	14	15	6	86
	Неверно	0	1 И	0	0	0	0	1
	Правильность, %	100	91,7	100	100	100	100	98,9
	N	14	12	27	14	15	6	88

На основе функций классификации модели 2, определены регионы произрастания образцов черного чая приобретенные в торговой сети. Все образцы кенийских торговых марок (ТМ) отнесены моделью к кенийской группе, 83% исследованных образцов ТМ индийского чая и 67 % цейлонского, отнесены к соответствующим регионам произрастания. При исследовании группы ТМ «Краснодарский» лишь 14% образцов вошли в соответствующую группу, что, вероятно, указывает на значительную долю купажного чая в образцах (рисунок 3.16).

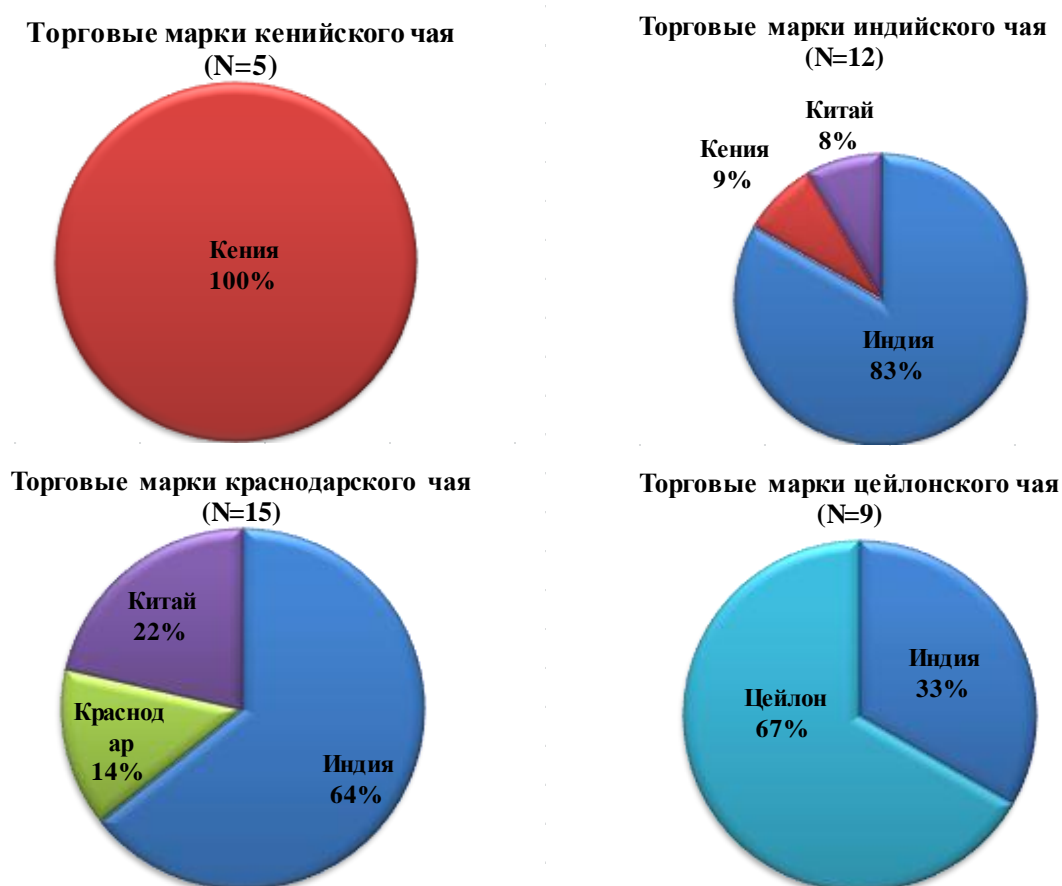


Рисунок 3.16 – Результаты определения региональной принадлежности торговых марок чая

Торговая марка «Краснодарский чай» исторически являлась купажем из местного сырья с добавлением чайного листа выращенного на территории Индии, Ассамы или Шри-Ланки. В марте 2022 года вступил в силу ГОСТ Р 59700-2021 Чай краснодарский. Технические условия [212] определяющий в

зависимости от содержания чайного листа краснодарского происхождения следующие категории краснодарского чая:

1 категория — 100 % чайного листа краснодарского происхождения;

2 категория — от 75 % до 99 % чайного листа краснодарского происхождения;

3 категория — от 60 % до 74 % чайного листа краснодарского происхождения;

4 категория — от 51 % до 59 % чайного листа краснодарского происхождения.

Применение функций классификации модели 3 позволило установить, что при доле купажного чая составляющей менее 50%, рассматриваемая модель относит образец к группе краснодарского чая (рисунок 3.17 а). При рассмотрении купажей цейлонского чая с индийским и ассамским, доля чая при которой образец относится к группе Цейлона составила 60% и 80 % соответственно (рисунок 3.17 б).

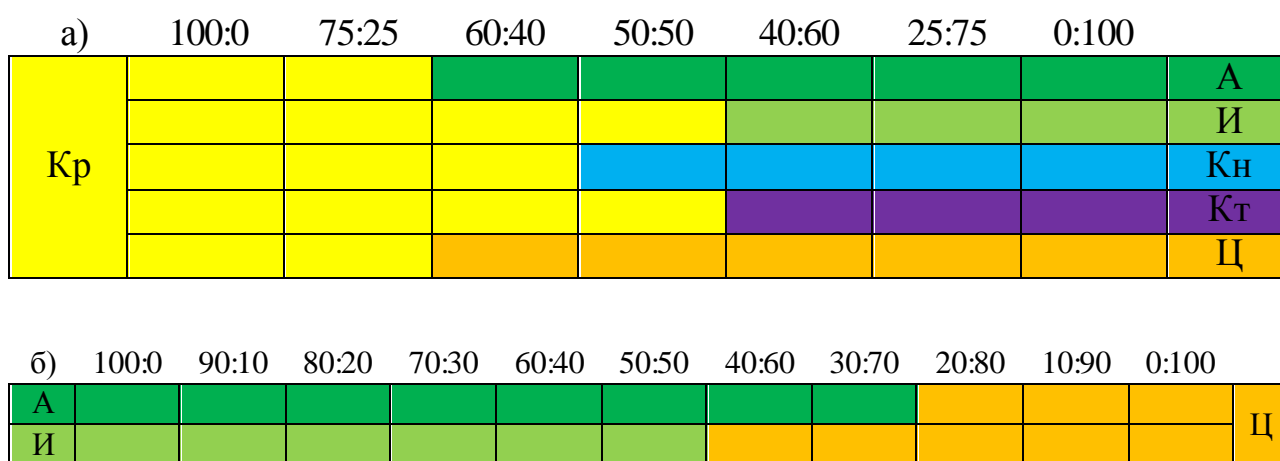
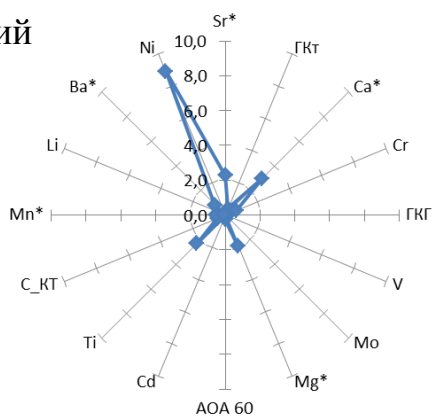


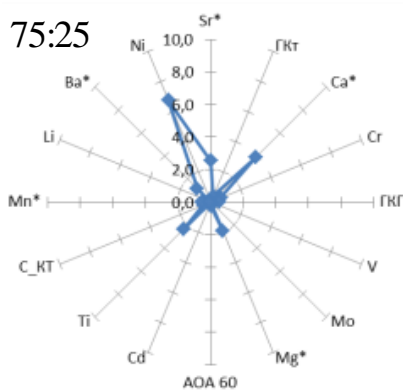
Рисунок 3.17 – Результаты определения региональной принадлежности различных купажей чая

На рисунках 3.18-3.22 представлено изменение визуального образа краснодарского черного чая от доли введенного купажного чая в соответствии с регламентированными категориями.

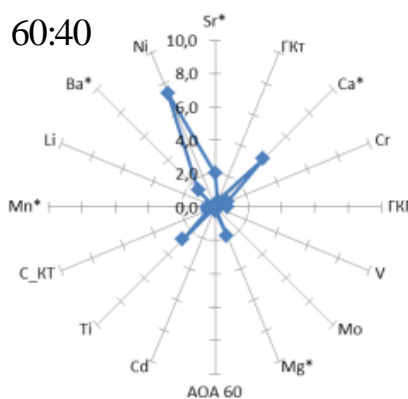
Краснодарский



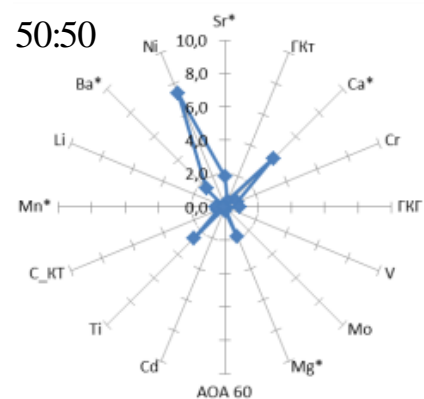
75:25



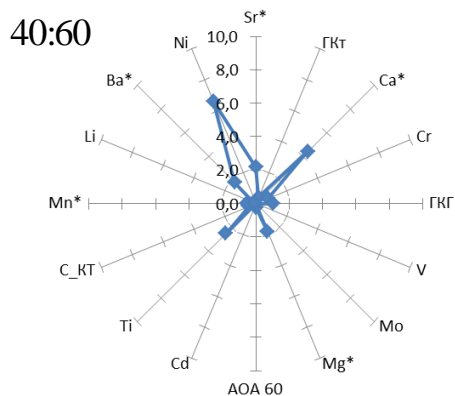
60:40



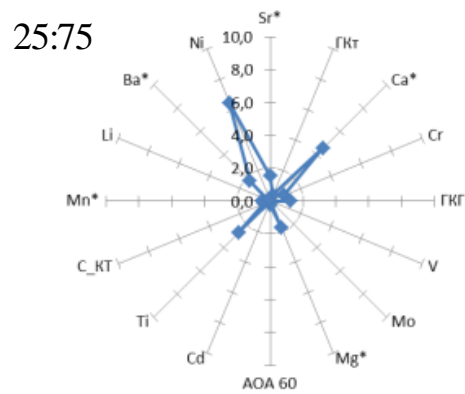
50:50



40:60



25:75



Индийский

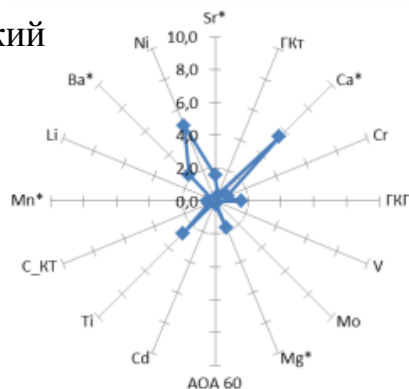
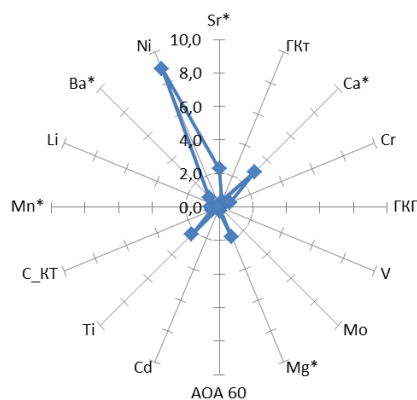
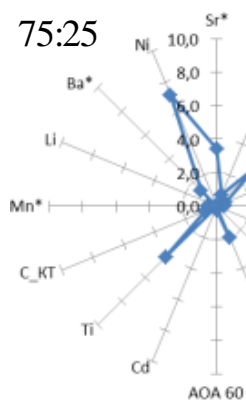


Рисунок 3.18 – Лепестковые диаграммы, построенные на основе содержаний Sr, Cr, Mo, Mg, Cd, Ti, Li, Ba, Ni, Ca, Mn, GKt, GKГ, Кт и ССФА в купажах чая краснодарского и индийского региона произрастания

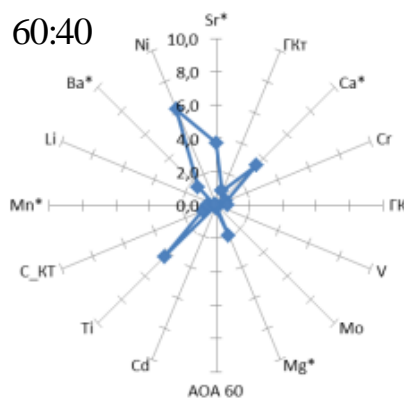
Краснодарский



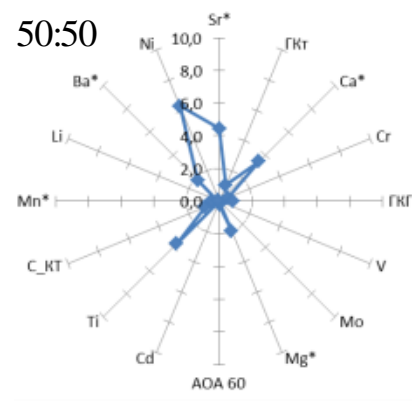
75:25



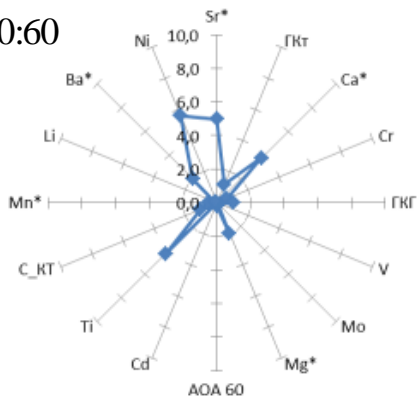
60:40



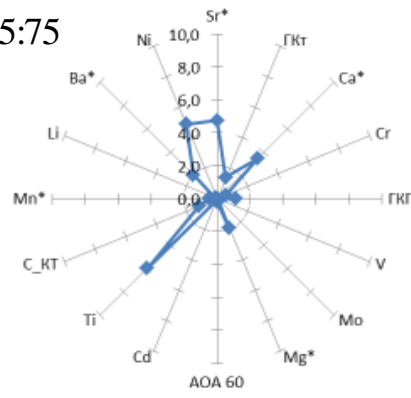
50:50



40:60



25:75



Кенийский

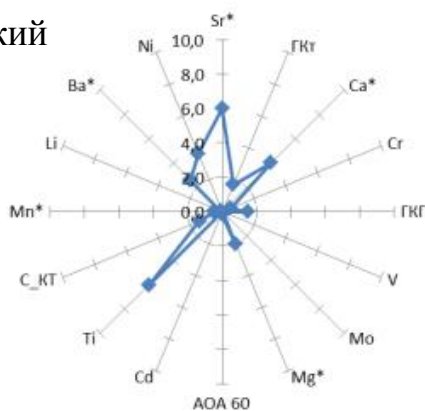
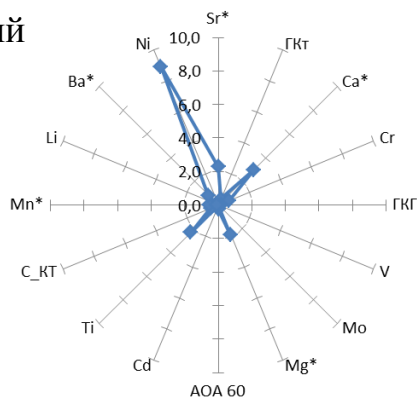
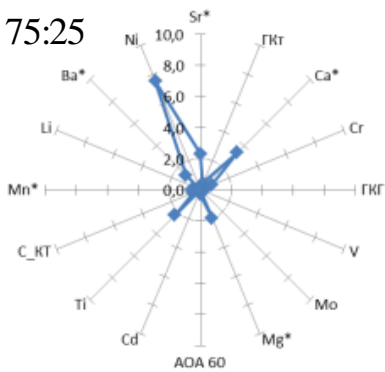


Рисунок 3.19 – Лепестковые диаграммы, построенные на основе содержаний Sr, Cr, Mo, Mg, Cd, Ti, Li, Ba, Ni, Ca, Mn, GKт, GKГ, КТ и ССФА в купажах чая краснодарского и кенийского региона произрастания

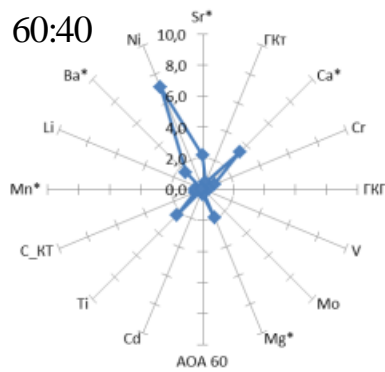
Краснодарский



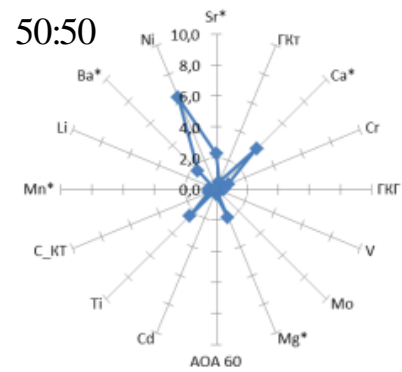
75:25



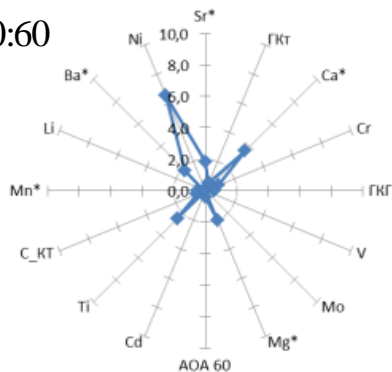
60:40



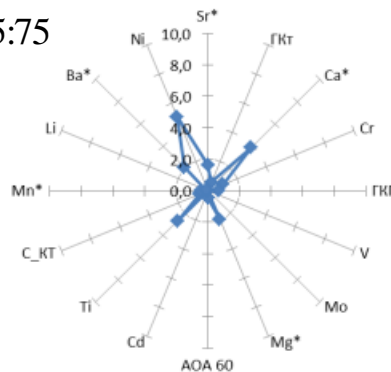
50:50



40:60



25:75



Ассамский

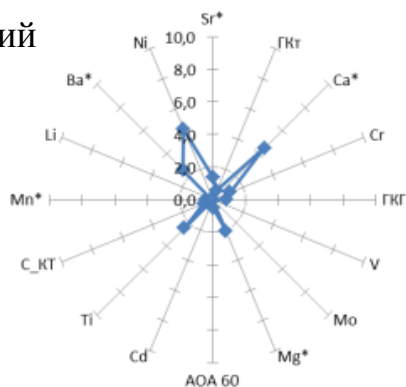
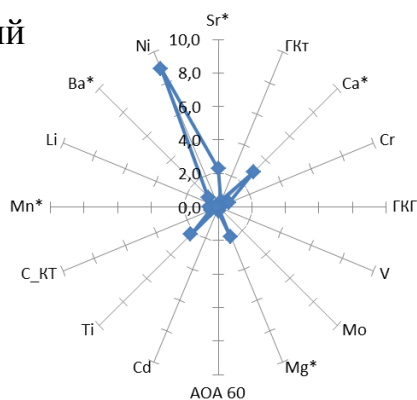
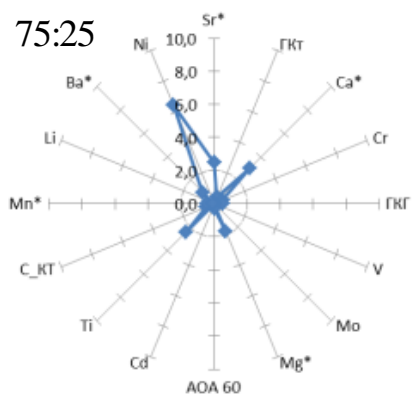


Рисунок 3.20 – Лепестковые диаграммы, построенные на основе содержаний Sr, Cr, Mo, Mg, Cd, Ti, Li, Ba, Ni, Ca, Mn, ГКт, ГКГ, КТ и ССФА в купажах чая краснодарского и ассамского региона произрастания

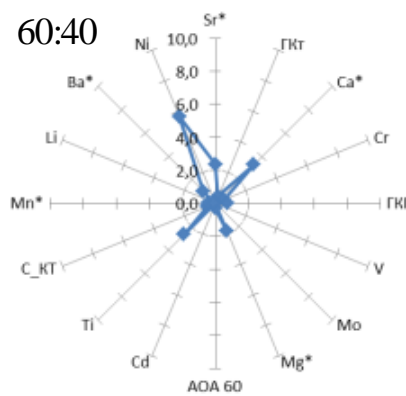
Краснодарский



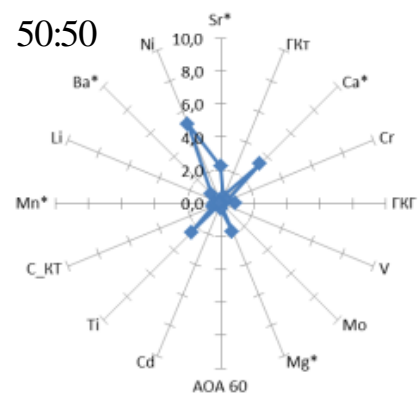
75:25



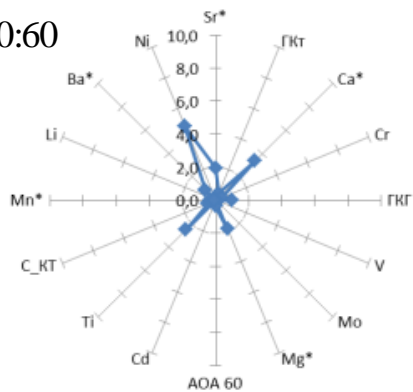
60:40



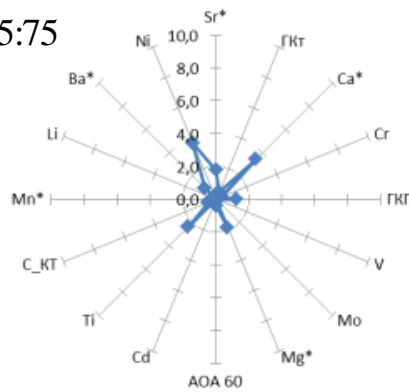
50:50



40:60



25:75



Цейлонский

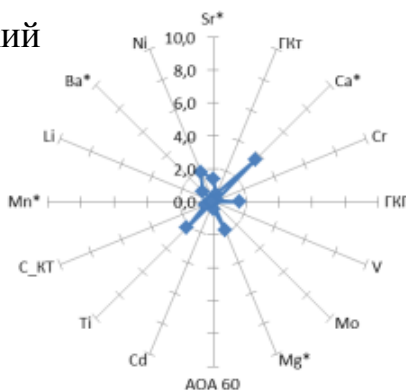
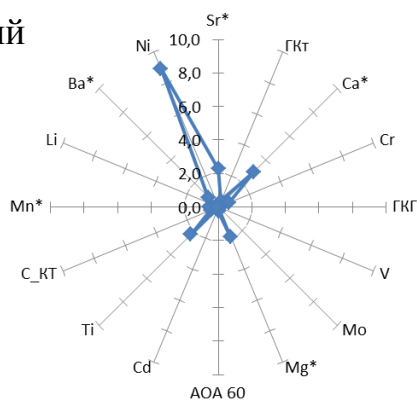
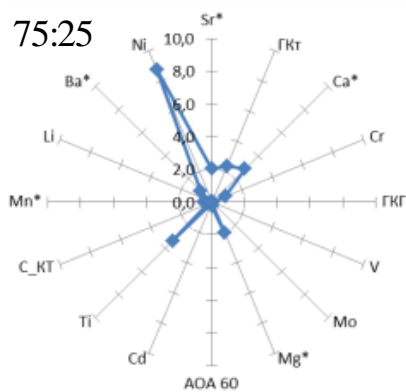


Рисунок 3.21 – Лепестковые диаграммы, построенные на основе содержаний Sr, Cr, Mo, Mg, Cd, Ti, Li, Ba, Ni, Ca, Mn, ГКТ, ГКГ, КТ и ССФА в купажах чая краснодарского и цейлонского региона произрастания

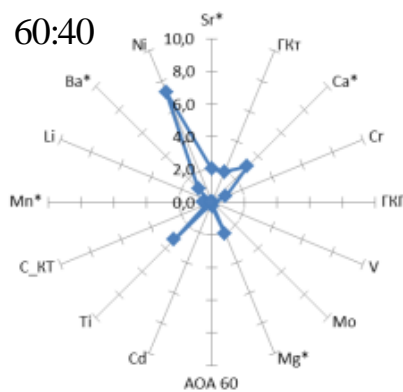
Краснодарский



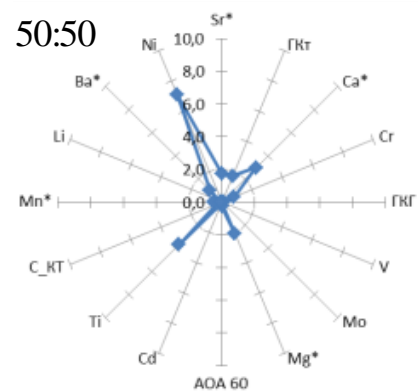
75:25



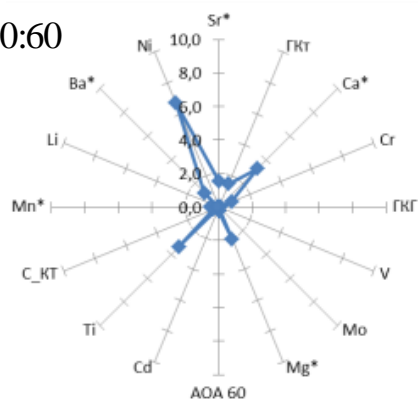
60:40



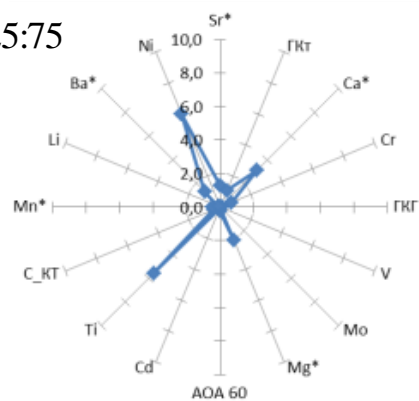
50:50



40:60



25:75



Китайский

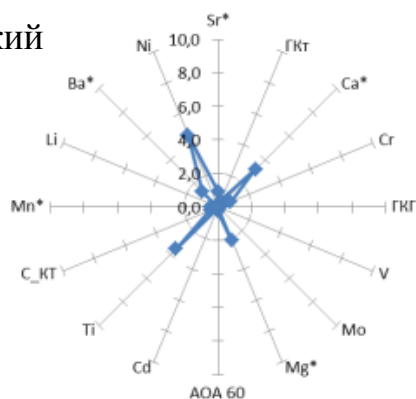
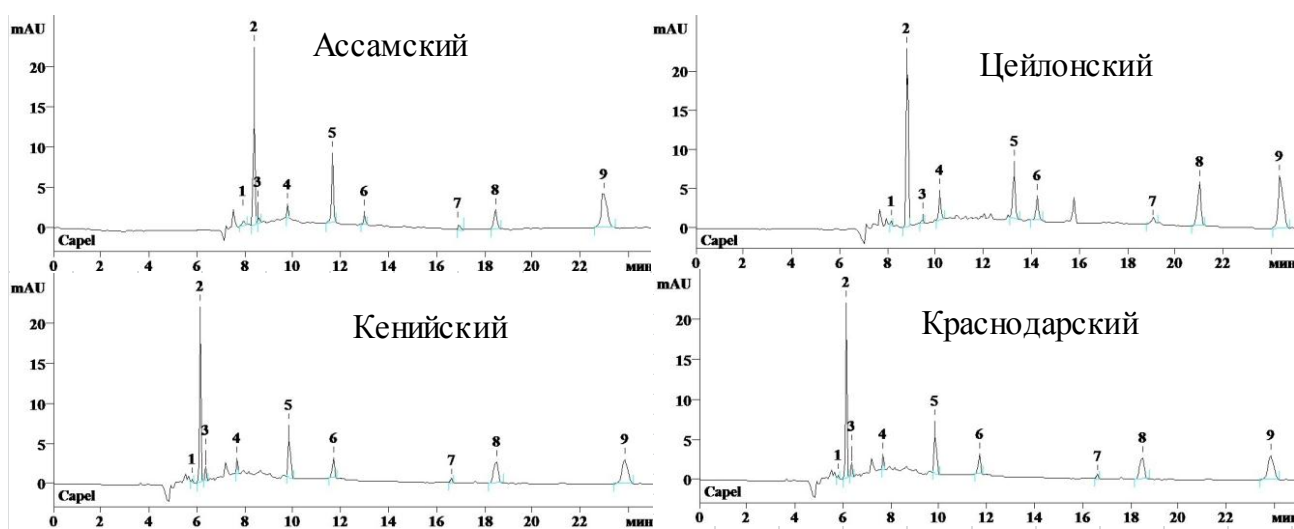


Рисунок 3.22 – Лепестковые диаграммы, построенные на основе содержаний Sr, Cr, Mo, Mg, Cd, Ti, Li, Ba, Ni, Ca, Mn, GKт, GKГ, Кт и ССФА в купажах чая краснодарского и китайского региона произрастания

Классификация черного чая по региональной принадлежности на основе электрофоретического профиля

Идентифицировать полный состав флавонолов и алкалоидов чая методами ВЭЖХ и КЭ и использовать его для аналитических целей процесс трудоемкий, длительный, кроме того требуется большое число стандартных веществ. В связи, с чем нами рассмотрен альтернативный подход, опирающийся на исследование электрофоретических профилей водных экстрактов чая различного происхождения, и выделение характеристических пиков, присутствующих на электрофореграммах.

Изучение электрофореграмм (рисунок 3.23) водных экстрактов чая цейлонского, кенийского, краснодарского, ассамского, индийского и китайского происхождения позволило выделить 9 постоянно присутствующих, удовлетворительно воспроизводимых и разделенных пиков. Для идентификации выделенных пиков в экстракт чая вводили растворы индивидуальных аналитов.



Условия анализа: ведущий электролит - 25 мМ фосфатный буфер (pH 7,4) с добавлением 30 мМ ДДСН и 5% этилового спирта; ввод: 30 мбар, 10 с; $U = +25$ кВ; $T = 25^{\circ}\text{C}$

Рисунок 3.23 – Пример электрофореграмм экстрактов черного чая различного региона произрастания

Для нивелирования влияния разброса значений площадей (S) характеристических пиков проведено их соотношение друг к другу. Получена матрица данных, включающая в себя 36 соотношений площадей характеристических пиков (переменных).

Для классификации всех исследуемых групп к массиву 36 соотношений площадей характеристических пиков применяли МГК-ПЛС это позволило установить, что наибольшее влияние на отнесение образца к группе чая соответствующего происхождения оказывают соотношения: $S_{ГКТ}/S_{КТ}$, $S_{КТ}/S_{ГКГ}$, $S_{КТ}/S_{ЭКГ}$, $S_{ЭКТ}/S_{ГКГ}$, $S_{ГКГ}/S_{ЭКГ}$.

На основе выбранных соотношений, построена модель, в которой значимыми по критерию Кайзера являлись четыре главные компоненты, остальные факторы содержали не более 20 % общей дисперсии и отброшены как статистический шум.

Проекция образцов чая на первые две компоненты показала, что исследуемые образцы сформировали в пространстве факторных координат четыре, неперекрывающихся области китайского, кенийского, краснодарского происхождения, а образцы индийского, ассамского и цейлонского чая образовали единую группу. Рассмотрение проекции 3 и 4 главной компоненты позволило классифицировать все исследуемые группы (рисунок 3.24).

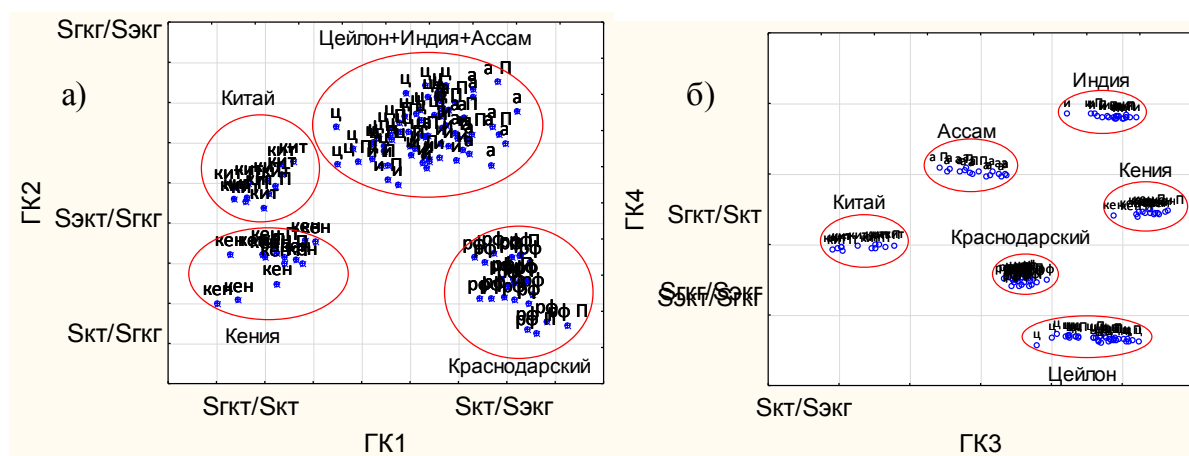


Рисунок 3.24 – Проекция образцов на факторную плоскость (а) 1 и 2 ГК, (б) на 3 и 4 ГК

Выявленные соотношения площадей характеристичных пиков, а именно $S_{ГКТ}/S_{КТ}$, $S_{КТ}/S_{ГКГ}$, $S_{КТ}/S_{ЭКГ}$, $S_{ЭКГ}/S_{ГКГ}$, $S_{ГКГ}/S_{ЭКГ}$ использовали для получения «визуального образа» чая. Лепестковые диаграммы (рисунок 3.25), построенные по соотношениям площадей характеристичных пиков, демонстрируют различие образов для образцов чая исследуемых регионов произрастания.

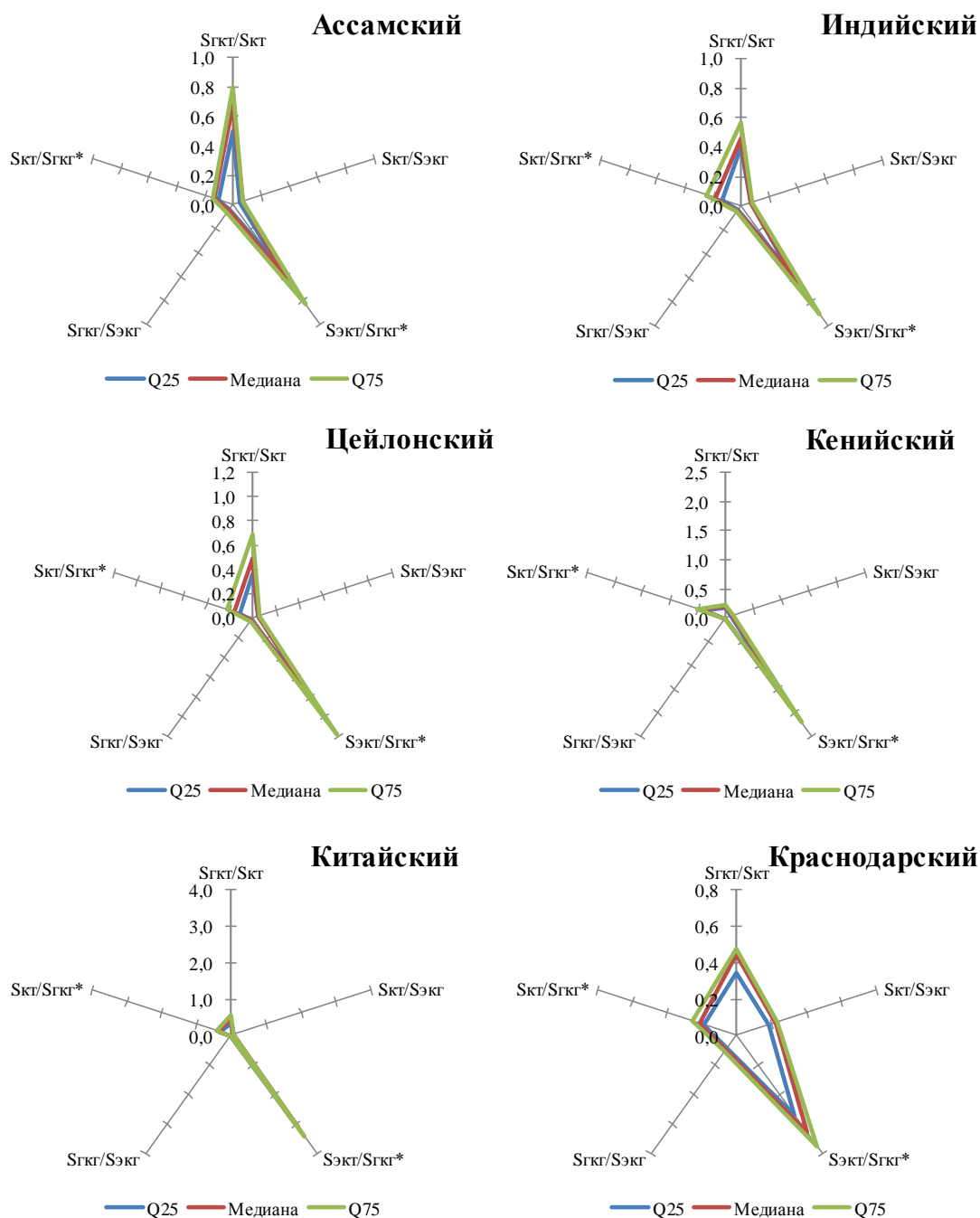


Рисунок 3.25 – Лепестковые диаграммы, построенные на основе медиан соотношений $S_{ГКТ}/S_{КТ}$, $S_{КТ}/S_{ГКГ}$, $S_{КТ}/S_{ЭКГ}$, $S_{ЭКГ}/S_{ГКГ}$, $S_{ГКГ}/S_{ЭКГ}$ в группах чая различного региона произрастания

Скрининг-определение региональной принадлежности чая на основе электрофоретического профиля

Разработка экспрессных методов анализа может быть полезна для решения вопросов идентификации и подтверждения качества некоторых пищевых продуктов [211].

Возможность экспресс-определения региона произрастания исследована для групп чая краснодарского, кенийского и китайского региона произрастания. Эти группы имеют хорошую локализацию в проекции на первые две главные компоненты, описывающие максимальную дисперсию в данных. Исходный массив соотношений характеристических пиков образцов цейлонского, китайского, ассамского, индийского, кенийского и краснодарского чая проанализирован с помощью критерия наименьшей значимости и выделены соотношения, отличающие кенийский, китайский и краснодарский чай от всех исследуемых групп и диапазоны их величин. Алгоритм проведения скрининг-определения включает в себя получение электрофореграммы, расчет соотношений характеристических пиков ($S_{\text{Кф}}/S_{\text{Кт}}$, $S_{\text{Кф}}/S_{\text{ЭКт}}$, $S_{\text{ЭГКГ}}/S_{\text{ЭКГ}}$, $S_{\text{ГКт}}/S_{\text{Кт}}$, $S_{\text{ГКт}}/S_{\text{ЭКГ}}$, $S_{\text{Кт}}/S_{\text{ГКГ}}$, $S_{\text{Кф}}/S_{\text{ГК}}$, $S_{\text{ЭГК}}/S_{\text{ЭКГ}}$, $S_{\text{ГК}}/S_{\text{ЭКГ}}$) и последующее соотнесение полученных значений с их выделенными диапазонами для китайского, кенийского и краснодарского чая (рисунок 3.26).

На 25 образцах чая различного происхождения, не участвующих в установлении диапазонов, проверена возможность использования выявленных отношений для скрининг-определения региона произрастания чая. Процент правильности для китайского чая составил 100%, кенийского – 88%, а для краснодарского – 97% (таблица 3.22).

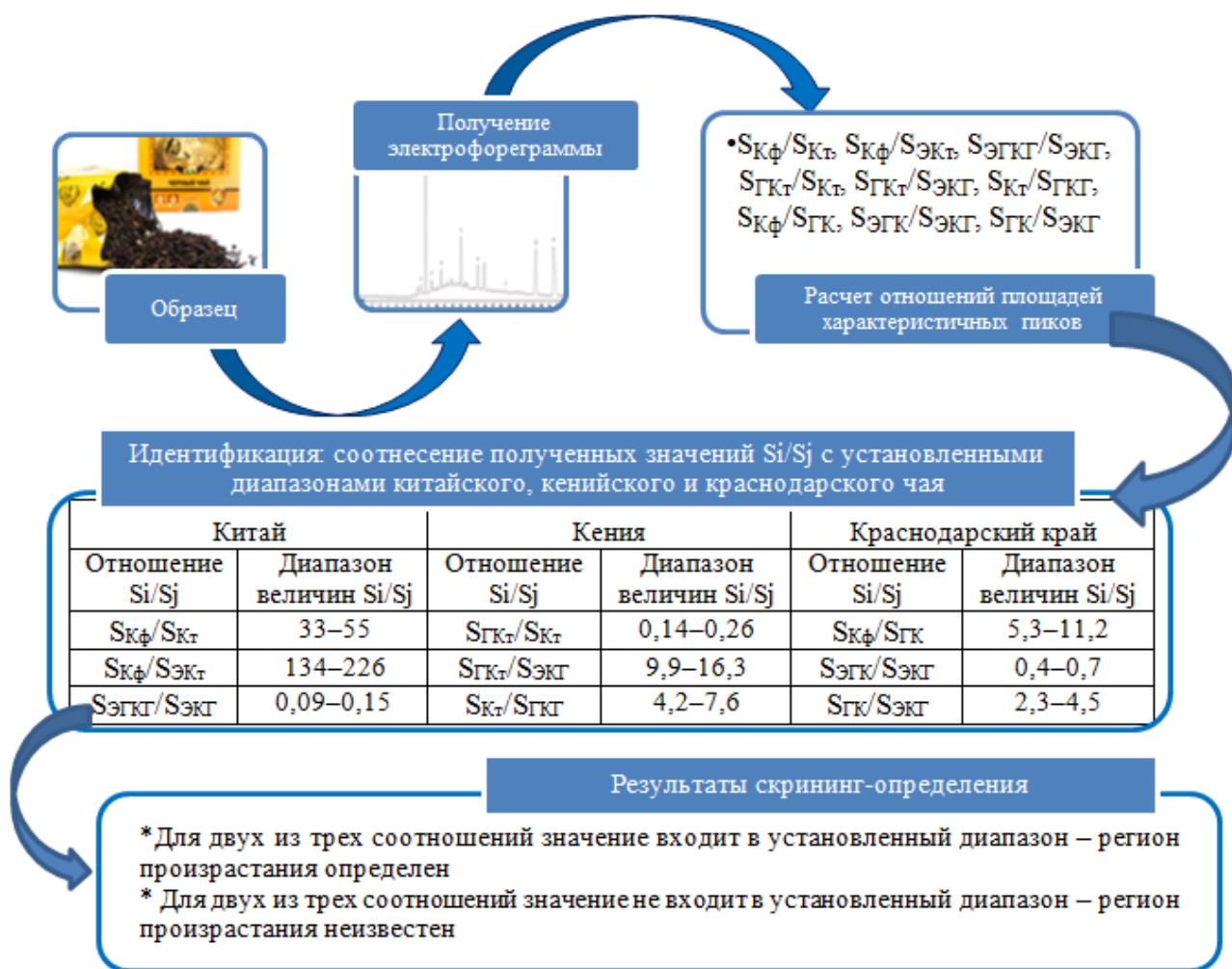


Рисунок 3.26 – Алгоритм скрининг-анализа чая для определения региона произрастания чая на основе электрофоретического профиля катехинов и ксантинов экстракта чая

Таблица 3.22 – Отношения площадей пиков и диапазон их величин, характеризующий чай разных регионов произрастания

Регион	Отношение S_i/S_j	Диапазон величин S_i/S_j	Правильность определения региона, %
Китай	$S_{Кф}/S_{Кт}$	33-55	100
	$S_{Кф}/S_{ЭКт}$	134-226	100
	$S_{ЭКГ}/S_{ЭКГ}$	0,09-0,15	100
Кения	$S_{ГКт}/S_{Кт}$	0,14-0,26	92
	$S_{ГКт}/S_{ЭКГ}$	9,9-16,3	88
	$S_{Кт}/S_{ГКГ}$	4,2-7,6	84
Краснодар	$S_{Кф}/S_{ГК}$	5,3-11,2	100
	$S_{ЭКГ}/S_{ЭКГ}$	0,4-0,7	92
	$S_{ГК}/S_{ЭКГ}$	2,3-4,5	100

Рассмотрим принцип действия алгоритма на нескольких образцах чая приобретенных в торговой сети. Значения площадей пиков кофеина, катехинов и галловой кислоты, определённых методом МЭКХ в исследуемых чаях представлены в таблице 3.23.

С использованием полученных площадей рассчитаны отношения площадей компонентов: $S_{\text{Кф}}/S_{\text{Кт}}$, $S_{\text{Кф}}/S_{\text{ЭКт}}$, $S_{\text{ЭГКГ}}/S_{\text{ЭКГ}}$, $S_{\text{ГКт}}/S_{\text{Кт}}$, $S_{\text{ГКт}}/S_{\text{ЭКГ}}$, $S_{\text{Кт}}/S_{\text{ГКГ}}$, $S_{\text{Кф}}/S_{\text{ГК}}$, $S_{\text{ЭГК}}/S_{\text{ЭКГ}}$, $S_{\text{ГК}}/S_{\text{ЭКГ}}$ (таблица 3.24).

Рассчитанные отношения сопоставлены с установленными для региона диапазонами. Из таблицы 3.25 видно, что для образца Мао Фен, рассчитанные значения отношений $S_{\text{Кф}}/S_{\text{Кт}}$ и $S_{\text{ЭГКГ}}/S_{\text{ЭКГ}}$ соответствуют диапазонам китайского чая, а значения отношений характерных для других регионов не соответствуют уставленным диапазонам. Таким образом, образец Мао Фен можно отнести к китайскому чаю. Для образца Солнечный лев, ни одно из рассчитанных отношений не вошло в уставленные для китайского, кенийского и краснодарского чая диапазоны, и регион произрастания данного образца остается неизвестен.

Таким образом, показана возможность классификации черного чая на основе отношений площадей характеристических пиков электрофореграммы по региональной принадлежности.

Таблица 3.23 – Площади кофеина, катехинов и галловой кислоты исследуемых образцов чая

Аналит		Чай черный крупнолистовой "Мао Фен"	Чай черный крупнолистовой "Сокровища Кении"	Чай черный крупнолистовой "Сталинский"	Чай черный крупнолистовой "Солнечный лев"
S, mAU*сек	ГКТ	3,08	2,38	1,82	2,40
	Кф	486,6	163,75	252,84	170,67
	КТ	9,52	9,62	5,25	4,46
	ЭГК	9,04	11,62	12,89	10,57
	ЭГКГ	15,8	44,31	15,36	55,89
	ЭКТ	79,48	37,29	20,79	20,08
	ГКГ	2,44	2,61	2,78	3,22
	ГК	144,56	62,22	71,01	58,28
	ЭКГ	149,84	84,51	22,60	127,44

Таблица 3.24 – Отношения площадей исследуемых образцов чая

Аналит	Чай черный крупнолистовой "Мао Фен"	Чай черный крупнолистовой "Сокровища Кении"	Чай черный крупнолистовой "Сталинский"	Чай черный крупнолистовой "Солнечный лев"
$S_{Кф}/S_{ЭКТ}$	51	17	48	38
$S_{Кф}/S_{ЭКТ}$	6	4	12	8
$S_{ЭГКГ}/S_{ЭКГ}$	0,11	0,52	0,68	0,44
$S_{ГКТ}/S_{КТ}$	0,32	0,25	0,35	0,54
$S_{ГКТ}/S_{ЭКГ}$	0,02	0,03	0,08	0,02
$S_{КТ}/S_{ГКГ}$	3,9	3,7	1,9	1,4
$S_{Кф}/S_{ГК}$	3,4	2,6	3,6	2,9
$S_{ЭГК}/S_{ЭКГ}$	0,06	0,1	0,6	0,08
$S_{ГК}/S_{ЭКГ}$	1,0	0,7	3,1	0,5

Таблица 3.25 – Результаты скрининг-определения региона произрастания исследуемых образцов чая

Регион	Отноше- ние	Диапазон	Чай черный крупнолистовой "Мао Фен"		Чай черный крупнолистовой "Сокровища Кении"		Чай черный крупнолистовой "Сталинский"		Чай черный крупнолистовой "Солнечный лев"	
Китай	Скф/Скт	33-55	51	+	17	-	48	+	38	+
	Скф/Сэкт	134-226	6	-	4	-	12	-	8	-
	Сэгкг/Сэкг	0,09-0,15	0,11	+	0,52	-	0,68	-	0,44	-
Кения	Сгкт/Скт	0,14-0,26	0,32	-	0,25	+	0,35	-	0,54	-
	Сгкт/Сэкг	9,9-16,3	0,02	-	0,03	-	0,08	-	0,02	-
	Скт/Сгкг	4,2-7,6	3,9	-	3,7	+	1,9	-	1,4	-
Крас- нодар	Скф/Сгк	5,3-11,2	3,4	-	2,6	-	3,6	+	2,9	-
	Сэгк/Сэкг	0,4-0,7	0,06	-	0,1	-	0,6	+	0,08	-
	Сгк/Сэкг	2,3-4,5	1,0	-	0,7	-	3,1	+	0,5	-
Заключение			Китай		Кения		Краснодар		Регион неизвестен	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1 Предложена методика одновременного определения катехинов – галлокатехина (1-20 мкг/см³), катехина (0,5-10 мкг/см³), эпигаллокатехина (1-150 мкг/см³), эпигаллокатехин галлата (1-200 мкг/см³), эпикатехина (0,5-20 мкг/см³), галлокатехин галлата (1-50 мкг/см³) и эпикатехин галлата (1-50 мкг/см³), кофеина (1-150 мкг/см³) и галловой кислоты (0,5-30 мкг/см³) в чае методом мицеллярной электрокинетической хроматографии.

2. Изучена железовосстанавливающая способность черного чая с различных регионов произрастания. Величина железовосстанавливающей способности чая уменьшалась (при соответствующих медианах выборок) в ряду, мМ ГК/г: кенийский (0,37) > цейлонский (0,34) > индийский (0,27) > ассамский (0,26) > китайский (0,23) > краснодарский (0,16). Установлено, что значение суммарного показателя ЖВС образцов чая удовлетворительно коррелирует с суммарным содержанием катехинов и галловой кислоты ($r = 0,55$ при уровне значимости 0,95; умеренная степень связи по шкале Чеддока).

3. В системе «почва – физиологически зрелый лист – флешь» для территории Краснодарского края установили высокую аккумуляцию К, Са, Mn и Sr во флешах и физиологически зрелом листе. Для флеша было характерно накопление К, Zn, Mg, Co, Ni и Mo в сравнении со зрелым листом, со старением чайного листа увеличивалось содержание Са, Mn, Sr, Ba, Cu, Pb, Al, Ti, Cr и Fe.

4. Исследован компонентный состав китайского, кенийского, индийского, ассамского, цейлонского и краснодарского черного чая. Предложены модели классификации чая по региональной принадлежности на основе концентрационного профиля, получены функции классификации, позволяющие установить регион произрастания с использованием выявленных дескрипторов. Модель 1 включает органические компоненты - содержания кофеина, галлокатехина, катехина, эпигаллокатехина,

эпигаллокатехин галлата, эпикатехина, галлокатехин галлата, эпикатехин галлата и галловой кислоты. Модель 2 базируется на содержаниях минеральных компонентов - Al, Fe, Ba, Na, Ti, Cr, Pb, Li. Модель 3 является сочетанием компонентов органической и неорганической природы Sr, Cr, Mo, Mg, Cd, Ti, Li, Ba, Ni, Ca, Mn, ГКТ, ГКГ, КТ и ЖВС. Процент правильной классификации для модели 1 составил 92%, модели 2 – 97%, модели 3 – 99%.

5 Показана возможность классификации китайского, кенийского, индийского, ассамского, цейлонского и краснодарского черного чая по региональной принадлежности на основе отношений площадей характеристических пиков электрофореграммы, зарегистрированной в условиях МЭКХ ($S_{ГКТ}/S_{КТ}$, $S_{КТ}/S_{ГКГ}$, $S_{КТ}/S_{ЭКГ}$, $S_{ЭКТ}/S_{ГКГ}$, $S_{ГКГ}/S_{ЭКГ}$).

Разработан алгоритм скрининг-определения региональной принадлежности краснодарского, кенийского и китайского черного чая, установлены характеристические отношения площадей пиков электрофореграммы и их диапазоны: $S_{Кф}/S_{КТ}$, $S_{Кф}/S_{ЭКТ}$, $S_{ЭГКГ}/S_{ЭКГ}$ – для китайского, $S_{ГКТ}/S_{КТ}$, $S_{ГКТ}/S_{ЭКГ}$, $S_{КТ}/S_{ГКГ}$ – кенийского, $S_{Кф}/S_{ГК}$, $S_{ЭГК}/S_{ЭКГ}$, $S_{ГК}/S_{ЭКГ}$ – краснодарского чая.

Правильность отнесения образца к соответствующему региону произрастания составила для китайского чая 100%, кенийского – 88%, а для краснодарского 97%.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 ГОСТ 32593–2013 Чай и чайная продукция. Термины и определения (с Поправками). – Введ. 2015–07–01. – М.: Стандартинформ, 2015. – 8 с.
- 2 Üstün, C. The plant of tea (*Camellia Sinensis* L.) historical development and medical evaluation / Ç. Üstün, N. Demirci // *Lokman Hekim Journal*. – 2013. – V. 3. – № 3 – P. 5-12
- 3 Николаева, М. А. Идентификация и обнаружение фальсификации продовольственных товаров / М. А. Николаева, Положишникова М. А. – М.: ИД «ФОРУМ»: ИНФРА–М, 2009. – С. 256-271.
- 4 Li, X. Tea: Types, Production, and Trade / X. Li and X. Zhu // *Encyclopedia of Food and Health*.– 2016. – P. 279-282
- 5 Ahmed, S. Green tea: the plants, processing, manufacturing and production / S. Ahmed, J. R. Stepp // *Tea in Health and Disease Prevention*. – 2013. – P. 19-31
- 6 Нечаев, А.П. Технологии пищевых производств / А. П. Нечаев [и др.]; Под ред. А. П. Нечаева.– М.: КолосС, 2005. – С. 728-741.
- 7 Zhang, Q. Tea: Analysis and Tasting / Q. Zhang, J. Ruan // *Encyclopedia of Food and Health*.– 2016. – P. 256-267
- 8 Chen, C.-N. Capillary electrophoretic determination of theanine, caffeine, and catechins in fresh tea leaves and oolong tea and their effects on rat neurosphere adhesion and migration / C.-N. Chen [et al.] // *J. Agric. Food Chem.*–2003. – № 51.– P. 7495–7503
- 9 Jolvis Pou, K.R. A Review of withering in the processing of black tea / K.R. Jolvis Pou, D. Saptashish // *Journal of Biosystems Engineering*. – 2016. – V. 41. – № 4. – P. 365–372.
- 10 Личко, Н.М. Технология переработки растениеводческой продукции / Н. М. Личко [и др.]; Под ред. Н. М. Личко.– М.: КолосС, 2008. – С. 555-565.

11 Jolvis Pou, K.R. Fermentation: The Key Step in the Processing of Black Tea / K.R. Jolvis Pou // Journal of Biosystems Engineering. – 2016. – V. 41. – № 2. – P. 85–92

12 Барабой В. А. Катехины чайного растения: структура, активность, применение / В. А. Барабой // Биотехнология – 2008. – Т. 1. – № 3. – С. 25 – 36.

13 Bokuchava, M. A. The biochemistry and technology of tea manufacture / M. A. Bokuchava, N. I. Skobeleva // CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 1980. – № 12. – P. 303-370

14 Ananingsih, V. Green tea catechins during food processing and storage: A review on stability / V. Ananingsih, A. Sharma, W. Zhou // Food Research International. – 2013. – №50. – P. 469 – 479.

15 Sang, S. Tea: Chemistry and Processing / S. Sang // Encyclopedia of Food and Health.– 2016. – P. 268-272

16 Engelhardt, U. H. Tea chemistry – What do and what don't we know? – A micro review / U. H. Engelhardt // Food Research International. – 2020. – № 132. – P. 109-120

17 Sang, S. The chemistry and biotransformation of tea constituents / S. Sang [et al.] // Pharmacological Research. –2011. – № 64. – P. 87–99

18 Harbowy, M. E. Tea Chemistry / M. E. Harbowy, D. A. Valentine // Critical Reviews in Plant Sciences.– 1997.– V 16.– № 5.– P. 415-480 СКИТНУТЬ ТГ

19 Hsiao, H.–Y. Determination of tea fermentation degree by a rapid micellar electrokinetic chromatography / H.–Y Hsiao, L. C. Chen, T.–J. Cheng // Food Chemistry. – 2010. – № 120. – P. 632 – 636.

20 Cogcon, P. Tea catechol oxidase: isolation, purification and kinetic characterization / P. Cogcon, G. A. Moss, G. W. Sandersov // Phytochemistry. – 1973. – V. 12. – P. 1947–1955 СКИТНУТЬ ТГ

- 21 Платонова Н. Б. Биохимический состав чая и его изменения под влиянием различных факторов / Н. Б. Платонова, О. Г. Белоус // Техника и технология пищевых производств. – 2020. – Т. 50. – №3.– С. 404-414.
- 22 McDowell, I. Flavonol Glycosides in Black Tea / I. McDowell, R. Bailey, G. Howard // J Sci Food Agric. – 1990. – № 53. – P. 411-414
- 23 Stahl, W. H. The Chemistry of Tea and Tea Manufacturing / W. H. Stahl // Advances in Food Research. – 1963. – V. 11. – P. 201-262
- 24 Engelhardt, U.H. Chemistry of Tea / U.H. Engelhardt // Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. – 2013. – С. 1-29
- 25 Карцова, Л.А. Определение полифенольных антиоксидантов в образцах зеленого чая. Характеристические хроматографические профили / Л.А Карцова [и др.]// Аналитика и контроль.– 2019.– Т. 23.– № 3.– С. 377-385
- 26 Desideri, D. Polarized X ray fluorescence spectrometer (EDPXRF) for the determination of essential and non essential elements in tea / D. Desideri [et al.] // Microchemical Journal. – 2011. – № 98. – P. 186–189
- 27 Han, W.-Y. Effect of liming and seasonal variation on lead concentration of tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) / W.-Y. Han [et al.] // Chemosphere. – 2007. – № 66. – P. 84–90
- 28 Li, S. Rates of soil acidification in tea plantations and possible causes / S. Li [et al.] // Agric. Ecosyst. Environ. – 2016. – № 233. – P. 60-66
- 29 Yang, X.D. Effects of long-term nitrogen application on soil acidification and solution chemistry of a tea plantation in China / X.D. Yang [et al.] // Agric. Ecosyst. Environ. – 2018. – № 252. – P. 74-82
- 30 Yan, P. Tea planting affects soil acidification and nitrogen and phosphorus distribution in soil / X.D. Yang [et al.] // Agric. Ecosyst. Environ. – 2018. – № 254. – P. 20-25
- 31 Li, Y. Manganese accumulation and plant physiology behavior of *Camellia oleifera* in response to different levels of nitrogen fertilization / Y. Li [et al.] // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2019. – № 184. – P. 1-9

32 Zhang, J. Accumulation of heavy metals in tea leaves and potential health risk assessment: a case study from Puan County, Guizhou Province, China / J. Zhang [et al.] // *Int.J.Envirn.Res.PublicHealth* – 2018. – № 15. – P. 133-155

33 Tao, C. Geological load and health risk of heavy metals uptake by tea from soil: What are the significant influencing factors? / C. Tao [et al.] // *Catena*. – 2021. – V. 204. – P.1-13.

34 Zhang, J. Distribution, accumulation, and potential risks of heavy metals in soil and tea leaves from geologically different plantations / J. Zhang [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2020.– V. 195. – P. 1-12.

35 Lagad, R.A. Evaluation of soil to tea plant elemental correlation using instrumental neutron activation analysis / R.A. Lagad [et al.] // *J Radioanal Nucl Chem*– 2014.– V.302. – P. 1507-1512

36 Zhang, W.-h. The sources-specific health risk assessment combined with APCS/MLR model for heavy metals in tea garden soils from south Fujian Province, China / W.-h. Zhang [et al.] // *Catena* – 2021.– V.203. – P. 1-9

37 Wen, B. Zn, Ni, Mn, Cr, Pb and Cu in soil-tea ecosystem: The concentrations, spatial relationship and potential control / B. Wen [et al.] // *Chemosphere*. – 2018. – № 204. – P. 92-100

38 Yemane, M. Levels of essential and non-essential metals in leaves of the tea plant (*Camellia sinensis* L.) and soil of Wushwush farms, Ethiopia / M. Yemane, B.S. Chandravanshi, T.Wondimu // *Food Chemistry*.– 2008. – V. 107. – P. 1236–1243

39 Li L. Geographical origin traceability of tea based on multi-element spatial distribution and the relationship with soil in district scale / L. Li [et al.] // *Food Control* – 2018.– V.90. – P. 18-28

40 Szymczycha-Madeja, A. Elemental analysis of teas and their infusions by spectrometric methods / A. Szymczycha-Madeja, M. Welna, P. Pohl // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2012. – V. 35. – P. 165-181

41 Yang, Q. Simultaneous separation of ammonium and alkali, alkaline earth and transition metal ions in aqueous–organic media by capillary ion analysis / Q. Yang [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 1994. – V. 688. – P. 339–349

42 Horie, H. Analysis of organic anions in tea infusions using capillary electrophoresis / H. Horie, Y. Yamauchi, K. Kohata // *Journal of Chromatography A*. – 1998. – V. 817. – P. 139–144

43 Nelson, B. C. The separation of green tea catechins by micellar electrokinetic chromatography / B. C. Nelson [et al.] // *J. Microcolumn Separations*. – 1998. – V. 10. – P. 671–679

44 Неудачина, Л. К. Определение ионов меди (II) методом капиллярного зонного электрофореза в виде комплекса с этилендиаминтетрауксусной кислотой / Е.Л. Лебедева Л.К. Неудачина, Е.Л. Лебедева // *Аналитика и контроль*. – 2012. – Т. 16. – № 2. – С. 162 – 168.

45 Horie, H. Developed a HPCE method to analyze organic acid in tea infusion / H. Horie, Y. Yamauchi, K. Kohata // *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* – 1998. – V. 45. – P. 364–371.

46 Guth, H. Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis / H. Guth, W. Grosch // *Flavour Fragrance J.* – 1993. – V. 8. – P. 173–178.

47 Miyuki, K. Variation of major volatile constituents in various green teas from Southeast Asia / K. Miyuki, S. Takayuki // *J. Agr. and Food Chem.* – 2001. – № 3. – P. 1394–1396.

48 Kenji, K. Identification of potent odorants in Japanese green tea (Sencha) / K. Kenji, M. Hideki // *J. Agr. and Food Chem.* – 1999. – № 12. – P. 5169–5172.

49 Lin, J. K. Survey of catechines, gallic acid, and methylxanthines in green, oolong, pu-erh, and black teas / K. J. Lin [et al.] // *J. Agr. and Food Chem.* – 1998. – № 9. – P. 3635–3642.

50 Lu, Y. Separation and quantification of component monosaccharides of the tea polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* by HPLC with indirect UV detection / Lu Y. [et al.] // *Food Chem.* – 2009. – V. 112. – № 3. – P. 742–746.

51 Gordana, R. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction and the solvent used / R. Gordana [et al.] // *Food Chem.* – 2008. – V. 110. – № 4. – P. 852–858.

52 Rechner, A. R. Black tea – the main source of food polyphenols among regularly drinking tea / A. R. Rechner [et al.] // *Free Radic. Res.* – 2002. – V. 36. – P. 1127–1235.

53 Chen, C.W. The fast analysis teaflavins HPLC–MS (chemical ionization at atmospheric pressure) / C. W. Chen, Y. W. Chang, L.C. Hwang // *J. Food Drug Anal.* – 1998. – V. 6. – P. 713–718.

54 Ohta, K. HPLC analysis of free amino acids and caffeine in green tea cultivated by hydroponics / K. Ohta, A. Yoshida, K. Harada // *J. Agric. Chem. Soc. Jpn* – 1995. – V. 69. – P. 1331–1337.

55 Seenivasan, S. Heavy metal content of black teas from south India / S. Seenivasan, [et al.] // *Food Control.* – 2008. – V.19. – P. 746–749

56 Немерешина, О. Н. Содержание микроэлементов и низкомолекулярных антиоксидантов в чае / О.Н. Немерешина, Н.Ф. Гусев, А.В. Филиппова // *Химия растительного сырья.* – 2014. – №2. – С. 155-168.

57 Zhong, W.-S. Determination of Pb, Cd, Cr, Cu and Ni in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. – *Journal of Food and Drug Analysis.* – 2016. – V. 24. – № 1. – P. 46-55

58 Ozcan, M. M. Mineral Content of Some Herbs and Herbal Teas by Infusion and Decoction / M.M. Ozcan [et al.] // *Food Chemistry.* – 2008. – V. 106. – №. 3. – P.1120-1127.

59 Ferrara, L. The distribution of minerals and flavonoids in the tea plant (*Camellia sinensis*) / L. Ferrara, D. Montesano, A. Senatore // *Il Farmaco.* – 2001. – V.56. – P. 397-401

60 Sofuoglu, S.C. An exposure and risk assessment for fluoride and trace metals in black tea / S.C. Sofuoglu, P. Kavcar // *Journal of Hazardous Materials.* – 2008. – V. 158. – P. 392–400

61 Cao, X. Determination of ultratrace rare earth elements by inductively coupled plasma mass spectrometry with microwave digestion and AG50W-x8 cation exchange chromatography / X. Cao [et al.] // *Analyst.* – 1998. – V. 123.– P. 1115–1119.

62 Kumar, A. Availability of essential elements in Indian and US tea brands / A. Kumar [et al.] // *Food Chemistry.* – 2005. – V. 89. – P. 441–448

63 Mahani, M. K. Simultaneous Determination of Sodium, Potassium, Manganese and Bromine in Tea by Standard Addition Neutron Activation Analysis / M. K. Mahani, M. G. Maragheh // *Food Anal. Methods.* – 2011. – V. 4.– P. 73–76

64 Zhang, Z. Q. Trace level voltammetric determination of heavy determination of mercury, cobalt, nickel and palladium by mixed binder carbon paste electrode containing dimethylglyoxime / Z. Q. Zhang // *Analytica Chimica Acta.* – 1996. – V. 333. – P. 119–124.

65 Melucci, M. Trace level voltammetric determination of heavy metals and total mercury in tea matrices (*Camellia sinensis*) / D. Melucci, M. Locatelli, C. Locatelli // *Food and Chemical Toxicology.* – 2013. – V. 62.– P. 901-907

66 Maltsev, A. S. Features of sample preparation techniques in the total-reflection X-ray fluorescence analysis of tea leaves / A. S. Maltsev [et al.] // *Food Chemistry.* – 2021. – V. 343. – P. 1-8

67 Lu, H. T. Simultaneous determination of copper, nickel, zinc, cadmium, cobalt, manganese and lead in tea by ion chromatography / H. T. Lu, S. F. Mou // *Lihua Jianyan Huaxue Fence.* – 2000. – V. 36.– P. 51–54.

68 Zuo, Y. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and puerh teas using HPLC with a photodiode array detector / Y. Zuo, H. Chen, Y. Deng // *Talanta.* – 2002. – V. 57. – P. 307–316.

69 Kumamoto, M. Enhanced separation and elution of catechins in HPLC using mixed-solvents of water, acetonitrile and ethyl acetate as the mobile phase / M. Kumamoto [et al.] // *Analytical Science.* – 2000. – V. 16. – P. 139–144.

70 Umegaki, K. Determination of tea catechins in food by HPLC with an electrochemical detector / K. Umegaki [et al.] // Food Hyg. Soc. Jpn. – 1996. – V. 37. – P. 77–81

71 Chang, C. L. Quantification of (+)-catechin and (–)-epicatechin in coconut water by LC–MS / C. L. Chang, R. T. Wu // Food Chemistry. – 2011. – V. 126. – P. 710–717.

72 Del Rio, D. HPLC–MSn analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea / D. Del Rio [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2004. – V. 52. – P. 2807–2815.

73 Мареева Д.О. Определение галловой кислоты, катехина, эпикатехина и кофеина в экстрактах черного чая / Д.О. Мареева [и др.] // Аналитика и контроль. – 2015. – Т. 19. – № 4. – С. 323–330.

74 Сычев, К. Анализ полифенольных соединений кофе и чая в режиме гидрофильной ВЭЖХ / К. Сычев, И. Стыскин // Аналитика. – 2012. – Т. 5. – №4. – С. 56 – 61.

75 Шафигулин, Р.В. ВЭЖХ частично ферментативных сортов чая / Р. В. Шафигулин, А. В., Буланова // Вестник СамГУ. – 2007. – Т. 52. – №2. – С. 134 – 139.

76 Lin, Y.Y. Characterization of flavonoids by liquid chromatography – tandem mass spectrometry / Y.Y. Lin [et al.] // Journal Chromatography. – 1993. – V. 629. – P. 389–493

77 Kiehne, A. Thermospray–LC–MS analysis of various groups of polyphenols in tea / A. Kiehne [et al.] // Z Lebensm Unters Forsch. – 1996. – V. 202. – P. 48–54

78 Шафигулин, Р.В. Качественное и количественное содержание катехинов в различных сортах чая / Р. В. Шафигулин, А. В., Буланова, К.Х. По // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2007. – Т. 7. – № 2. – С. 349 – 352

79 Шафигулин, Р.В. Хроматографический анализ флавоноидов, содержащихся в чае / Р. В.Шафигулин, А.В., Буланова, К.Х. По //

Сорбционные и хроматографические процессы. – 2006. – Т. 6. – № 5. – С. 844 – 850.

80 Pelillo, M. Preliminary investigation into development of HPLC with UV and MS–electrospray detection for the analysis of tea catechins / M. Pelillo [et al.]. // *Food Chemistry*. – 2002. – Т. 78. – P. 369 – 374.

81 Huafu, W. HPLC determination of catechins in tea leaves and tea extracts using relative response factors / W. Huafu, G. J. Provan, K. Helliwell // *Food Chemistry*. – 2003. – № 81. – P. 307 – 312.

82 Chen, Q. Identification of green tea's (*Camellia sinensis* (L.)) quality level according to measurement of main catechins and caffeine contents by HPLC and support vector classification pattern recognition / Q. Chen, Z. Guo, J. Zhao // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2008. – № 48. – P. 1321 – 1325.

83 Tokugoglu, O. Catechins and methylxanthines in twenty–three black tea infusions by HPLC: correlations with astringency / O. Tokugoglu, M. K. Unal, M. O. Balaban // *Ital. J. Food Sci.* . – 2008. – № 4. – P. 479 – 492.

84 Barroso, M. B. Determination of Green and Black Tea Composition by Capillary Electrophoresis / M. B. Barroso, G. Werken // *J. High Resol. Chromatogr.* – 1999. – № 22. – P. 225 – 230.

85 Horie, H. Application of capillary electrophoresis to tea quality estimation / H. Horie, K. Kohata // *J. Chromatogr. A*. – 1998. – V. 802. – P. 219 – 223.

86 Карцова Л. А. Электрофоретическое разделение чайных флаваноидов в режиме капиллярного зонного электрофореза и мицеллярной электрокинетической хроматографии / Л. А. Карцова, О. В. Ганжа // *Журнал прикладной химии*. – 2006. – Т. 79. – № 7. – С. 1120 – 1124.

87 Карцова Л.А. Возможности и ограничения различных режимов капиллярного электрофореза для количественного определения катехинов и кофеина в черном и зеленом чае / Л.А. Карцова, О.В. Ганжа, А.В. Алексеева // *Журнал аналитической химии*. – 2010. – Т. 65. – № 2. – С. 212–217

88 Weiss, D. J. Determination of catechins in matcha green tea by micellar electrokinetic chromatography / D. J. Weiss, C. R. Anderton // *Journal of Chromatography A*. – 2003. – № 1011. – P. 173 – 180.

89 Liu, C.–M. Estimation of tea catechin levels using micellar electrokinetic chromatography: A quantitative approach / C.–M. Liu, C.–Y. Chen, Y.–W. Lin // *Food Chemistry*. – 2014. – № 150. – P. 145 – 150.

90 López, M. Development, validation and application of Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography method for routine analysis of catechins, quercetin and thymol in natural samples / M. López [et al.]. // *Microchemical Journal*. – 2011. – № 99. – P. 461 – 469.

91 Stach, D. Decrease in concentration of free catechins in tea over time determined by micellar electrokinetic chromatography / D. Stach, O. J. Schmitz // *Journal of Chromatography A*. – 2001. – № 924. – P. 519 – 522.

92 Aucampa, J.P. Simultaneous analysis of tea catechins, caffeine, gallic acid, theanine and ascorbic acid by micellar electrokinetic capillary chromatography / J.P. Aucampa, Y. Harab, Z. Apostolidesa // *Journal of Chromatography A*. – 2000. – № 876. – P. 235 – 242.

93 Peres, R. G. Determination of catechins in green tea infusions by reduced flow micellar electrokinetic chromatography / R. G. Peres // *Food Chemistry*. – 2011. – № 127. – P 651 – 655.

94 Lee, B.–L. Comparative analysis of tea catechins and theaflavins by high–performance liquid chromatography and capillary electrophoresis / B.–L. Lee, C.–N. Ong // *J. Chromatogr. A*. – 2000. – № 881. – P 439–447.

95 Bonoli, M. Analysis of green tea catechins: comparative study between HPLC and HPCE / M. Bonoli [et al.] // *Food Chemistry*. – 2003. – № 81. – P 631–638.

96 Xie, M. Multielement analysis of Chinese tea (*Camellia sinensis*) by total-reflection X-ray fluorescence / M. Xie [et al.] // *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchungund-Forschung A*. – 1998. – V. 207.– P. 31–38

97 Kara, D. Evaluation of trace metal concentrations in some herbs and herbal teas by principal component analysis / D. Kara // Food Chemistry. – 2009. – V. 114. – P. 347–354

98 Milani, R.F. Trace elements in Camellia Sinensis marketed in southeastern Brazil: extraction from tea leaves to beverages and dietary exposure / R.F. Milani, M. A. Morgano, S. Cadore // LWT-Food Science and Technology. – 2016. – V. 68. – P. 491-498

99 Xu, L. Fusion of elemental profiles and chemometrics: Discrimination of organic and conventional green teas / L. Xu [et al.] // Microchemical Journal. – 2019. – V. 149. – P. 1-6.

100 Купчик, Е.Ю. Определение тяжелых металлов в чае методом инверсионной вольтамперометрии / Е.Ю. Купчик, Н.П. Буяльская // Весник Черниговского национального технологического университета. – 2015. – Т. 77. – № 1. – С. 190-195

101 Paz-Rodríguez, B. Application of High Resolution-Continuum Source Flame Atomic Absorption Spectrometry (HR-CS FAAS): Determination of trace elements in tea and tisanes / B. Paz-Rodríguez [et al.] // Food Chemistry. – 2015. – V. 170. – P. 492–50

102 Soylaka, M. Optimization of microwave assisted digestion procedure for the determination of zinc, copper and nickel in tea samples employing flame atomic absorption spectrometry / M. Soylaka [et al.] // Journal of Hazardous Materials. – 2007. – V. 149. – P. 264–268

103 Szymczycha-Madeja, A. Determination of essential and non-essential elements in green and black teas by FAAS and ICP OES simplified – multivariate classification of different tea products / A. Szymczycha-Madeja, M. Welna, P. Pohl // Microchemical Journal. – 2015. – V. 121. – P. 122–129

104 Мальцев А.С. Многоэлементный анализ чая методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии с полным внешним отражением / А.С. Мальцев [и др.] // Аналитика и контроль. – 2019. – Т. 23. – № 2. – С. 247-257

105 Rupali, A. Instrumental neutron activation analysis for multi-elemental determination in Indian tea samples / A. Rupali [et al.] // J Radioanal Nucl Chem – 2011. – V. 288. – №2. – P. 613–620

106 Srividhya, B. Determination of lead, manganese, copper, zinc, cadmium, nickel and chromium in tea leaves / B. Srividhya, R.Subramanian, V. Raj // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2011. – V. 3. – № 4. – P. 257-258

107 Costa, L. M Comparison of Heating Extraction Procedures for Al, Ca, Mg and Mn in Tea Samples / L. M. Costa, S. T. Gouveia, J. A. Nybrega // Analytical Science. – 2002. –V. 18. – № 3. – P. 313-318

108 Dambiec, M. Levels of essential and non-essential elements in black teas commercialized in Poland and their transfer to tea infusion / M. Dambiec, L. Polechonska, A. Klink // Journal of Food Composition and Analysis. – 2013. – V. 31. – P. 62–66

109 De Oliveira, L. M. Metal concentrations in traditional and herbal teas and their potential risks to human health / L/ M. de Oliveira [et al.] // Science of the Total Environment. – 2018. – V. 633. – P. 649–657

110 Pereira, F.M.S.V. Development of a methodology for calcium, iron, potassium, magnesium, manganese, and zinc quantification in teas using x-ray spectroscopy and multivariate calibration F.M.S.V. Pereira, E. R. Pereira-Filho, M. I. M. S. Bueno // J. Agric. Food Chem.– 2006. – V 54. – № 16. – P. 5723–573

111 Яшин, И.Я. Природные антиоксиданты. Содержание в пищевых продуктах и влияние их на здоровье, и старение человека / И.Я. Яшин, В.Ю. Рыжнев, А.Я. Яшин, Н.И. Черноусова. – М.: «ТрансЛит», 2009. – 196 с.

112 Чугунова О. В. Антиоксидантная активность как показатель профилактической эффективности функциональных продуктов / О.В. Чугунова, Е.В. Пастушкова // Известия УрГЭУ.– 2010.– №.– С. 174-177.

113 Беланова, Н.А. Определение катехинов методами ТСХ и УФ спектрофотометрии / Н.А. Беланова [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. –2011. – Т.77. – №12. – С. 21 – 23

114 Spiro, M. Determination of Theaflavins in Tea Solution Using the Flavonost Complexation Method / M. Spiro, W. E. Price // *Analyst.* –1986. – V. 111. – P 331-333.

115 Спектрофотометрическое определение суммы фенольных соединений в растительных объектах с использованием хлорида алюминия, 18-молибдодифосфата и реактива Фолина-Чокальтеу Т.А. Денисенко*, А.Б. Вишникин, Л.П. Цыганок *Аналитика и контроль.* 2015. Т. 19. № 4

116 Цюпко, Т.Г. Определение суммарного содержания фенольных антиоксидантов в чае с применением разных вариантов метода FRAP / Т.Г. Цюпко [и др.] // *Аналитика и контроль.* – 2019. – Т. 23. – № 1. – С. 143-151

117 Carlon P. Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar / P. Carlon [et al.] // *Food Research International.* – 2012. – V. 53. – P. 900–908.

118 Kosar, M. Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria* L.) extracts / M. Kosar[et al.]// *Food Chem.* – 2007.– Vol. 103.– P. 952-959.

119 Rice-Evance, C. Total antioxidant status in plasma and body fluids / C. Rice-Evance, N.J. Miller // *Methods of Enzymology.* – 1994. – V. 234. – P.279-293.

120 Яшин, А.Я. Методы определения антиоксидантной активности пищевых продуктов и БАДов / А.Я. Яшин [и др.] // *Мир измерений.* – 2012. – № 1. – С. 30-35

121 Kishida, E. Comparison of the formation of malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactive substances from autoxidized fatty acids based on oxygen consumption / E. Kishida [etal.] // *Journal Agricultural Food Chemistry.* – 1993. – V. 41. – № 10. – P. 1598-1600.

122 Шарафутдинова, Е.Н. Потенциометрический метод определения антиоксидантной активности: оценка основных метрологических характеристик / Е.Н Шарафутдинова [и др.] // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов.* – 2008. – Т. 74. – №6. – С. 9-14

123 Benzie, I. F. F. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration / I. F. F. Benzie, J. J. Strain // *Methods in enzymology*. – 1999. – V. 299. – P. 15-27.

124 Berker, K.I. Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents / K.I. Berker[etal.]// *Talanta*. – 2007. – V. 72. – P. 1157-1165.

125 Цюпко, Т.Г. Определение суммарного содержания антиоксидантов методом FRAP / Т.Г. Цюпко [и др.]// *Аналитика и контроль*. – 2011. – Т. 15. – №3. – С. 287-298.

126 Темердашев, З.А. Определение антиоксидантной активности пищевых продуктов с использованием индикаторной системы Fe (III) / Fe (II) – органический реагент / З.А.Темердашев[и др.] // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. – 2006. – Т. 72. – №11. – С. 15-19.

127 Arya, S.P. A new method for the ascorbic acid assay using iron(II) – pyridine-2,6-dicarboxylic acid complex / S.P. Arya, P. Jain, M. Mahajan // *Ann. Chim.* – 2002. – V. 92. – №11-12. – P. 1159-1164.

128 Atanasova, B.D. Extraction and spectrophotometric analysis of ascorbic and dehydroascorbic acids in mouse and human intestine / B.D. Atanasova [et al.] // *Bulg. Chem. Commun.* – 2003. – V. 35. – №3. – P. 167-173.

129 Benzie, I.F.F. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay / I.F.F. Benzie, Y.T. Szeto // *J. Agr. AndFoodChem.* – 1999. – V. 47. – № 2. – P. 633-636.

130 Анисимович, И.П. Параметры антиоксидантной активности соединений: относительная антиоксидантная активность чая / И.П. Анисимович [и др.]// *Научные ведомости БелГУ. Серия Естественные науки*. – 2010. – Т. 5. – № 9. – С. 104-110.

131 Цюпко, Т.Г. Определение суммарного содержания фенольных соединений антиоксидантов в чае с применением разных вариантов метода FRAP / Т.Г. Цюпко, Н.С. Бриленок, К.С. Гуцаева, В.И. Вершинин // Аналитика и контроль. – 2019. – Т.23. – №1. – С.143-151

132 Бриленок Н.С., Вершинин В.И., Бахарева М.В. Оценка антиоксидантной активности полифенолов по методу FRAP в присутствии комплексантов // Аналитика и контроль. – 2016. – Т. – 20. – № 3. – С. 209-217.

133 Цюпко, Т.Г. Аналитические решения при определении некоторых показателей безопасности и качества пищевых продуктов: дис... д-ра хим. наук: 02.00.02: Краснодар, 2012. 273 с.

134 Абдулин, И.Ф. Кулонометрическая оценка антиоксидантной способности экстрактов чая электрогенерированным бромом / И.Ф. Абдулин, Е.Н. Турова, Г. К. Будников // Журн. аналит. химии. – 2001. – Т. 56. – № 6. – С. 627-629.

135 Абдуллин, И. Ф. Потенциометрическая оценка вклада аскорбиновой кислоты в интегральную антиоксидантную способность растительного материала / И. Ф. Абдуллин [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2002. – Т. 57. – № 4. – С. 418-421

136 Брайнина, Х.З. Оценка антиоксидантной активности пищевых продуктов методом потенциометрии / Х.З. Брайнина, А.В. Иванова, Е.Н. Шарафутдинова // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2004. – №9. – С. 73-75.

137 Короткова, Е.И. Новый способ определения активности антиоксидантов / Е. И. Короткова // Журн. физ. химии. – 2000. – Т. 74. – №9. – С. 1544-1546.

138 Короткова, Е. И. Новый вольтамперометрический метод определения антиоксидантной активности косметической продукции / Е. И. Короткова [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2004. – Т. 70. – № 8 – С. 13-17.

139 Короткова, Е. И., Карбаинов Ю.А.. Вольтамперометрический способ определения активности антиоксидантов. Патент РФ № 2224997.

140 Мисин, В. М. Измерение антиоксидантной активности экстрактов смесей чая электрохимическими методами / В. М. Мисин, Н. Н. Сажина, Е. И. Короткова // Химия растительного сырья. – 2011. – № 2. – С. 137-143.

141 Цюпко, Т. Г. Оценка антиоксидантной активности пищевых продуктов с использованием индикаторной системы на основе фенантролиновых комплексов железа / Т.Г. Цюпко [и др.] // Известия вузов. Пищевая технология. – 2011. – № 5–6. – С. 13–18.

142 Родионова О.Е. Хемометрика в аналитической химии/О.Е. Родионова, А.Л. Померанцев - М.: Институт химической физики им.Н.Н. Семенова РАН,2010.-с.61.

143 Родионова О.Е. Хемометрический подход к исследованию больших массивов химических данных/О.Е. Родионова//Рос.хим.ж – 2006. – №2. – С.128-144.

144 Granato, D., Trends in Chemometrics: Food Authentication, Microbiology, and Effects of Processing / D. Granato [et al.] // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. – 2018. – V. 17. – № 3. – P. 663-677.

145 Кулапина, Е.Г., Мультисенсорные системы в анализе жидких и газовых объектов / Е. Г. Кулапина, Н. М Макарова // Изд-во «Научная книга», 2010. – 165 с.

146 Родионова, О. Е. Хемометрика: достижения и перспективы / О.Е. Родионова, А.Л. Померанцев // Успехи химии. – Т. 75. – № 4. – С. 302–321.

147 Medina, S. Food fingerprints – A valuable tool to monitor food authenticity and safety / S. Medina [et al.] // Food Chemistry. – 2019. – V. 27. – P. 144-162

148 Краснянчин, Я.Н. Хемометрические методы в контроле подлинности продуктов питания и пищевого сырья / Я.Н. Краснянчин, А.В. Пантелеймонов, Ю.В. Холин // Методы и объекты химического анализа. – 2010. –Т. 5. – №3. – С. 118–147.

149 Patrignani, M. Volatile compounds of Argentinean honeys: Correlation with floral and geographical origin / M. Patrignani [et al.] // Food Chemistry. – 2018. – V. 246. – P. 32-40

150 Oliveri, P. Class-modelling in food analytical chemistry: Development, sampling, optimisation and validation issues e A tutorial / P. Oliveri // Analytica Chimica Acta. –2017. – V. 982. – P. 9-19

151 Luykx, D.M.A.M. An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products / D.M.A.M. Luykx, S.M. van Ruth // Food Chemistry. – 2008. – № 107. – P. 897–911

152 Cuadros-Rodríguez, L. Chromatographic fingerprinting: an innovative approach for food 'identification' and food authentication – A tutorial / L. Cuadros-Rodríguez [et al.] // Analytica Chimica Acta.– 2016.– V. 909.– №. 25.– P. 9-23

153 Moreda-Pineiro, A. The classification of tea according to region of origin using pattern recognition techniques and trace metal data / A. Moreda-Pineiro, A. Fisher, S. J. Hill // Journal of Food Composition and Analysis.– 2003. – № 16. –P. 195–211.

154 Pilgrim, T. S Application of trace element and stable isotope signatures to determine the provenance of tea (*Camellia sinensis*) samples / T. S. Pilgrim, R. J. Watling, K. Grice // Food Chemistry. – 2010. – № 110. – P. 921–926

155 Kodama, S. Usefulness of catechins and caffeine profiles to determine growing areas of green tea leaves of a single variety, yabukita, in Japan / S. Kodama [et al.] // Journal of Health Science – 2007. – № 53. – P. 491–495.

156 Seetohul, L. N. Discrimination of Sri Lankan black teas using fluorescence spectroscopy and linear discriminant analysis / L. N. Seetohul [et al.] // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2012. – V. 93. – №. 9. – P. 2308-2311.

157 He, W. Evaluation of Chinese tea by the electronic tongue: correlation with sensory properties and classification according to geographical origin and grade level / W. He [et al.] // Food Research International. – 2009. – №. 42.– P. 1462–1467.

158 Kovarcs, Z. Geographical origin identification of pure Sri Lanka tea infusions with electronic nose, electronic tongue and sensory profile analysis / Z. Kovarcs [et al.] // Journal of Chemometrics. – 2010.– №. 24.– P. 121–130

159 Chen, Q. Classification of tea category using a portable electronic nose based on an odor imaging sensor array / Q. Chen, A. Liu, J. Zhao, Q. Ouyang // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2013. – №. 84. – P 77–83.

160 Chen, Q Discrimination of green tea quality using the electronic nose technique and the human panel test, comparison of linear and nonlinear classification tools / Q. Chen [et al.] // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2013. – №. 159. – P. 294–300.

161 Zhao, J. Automated tea quality classification by hyperspectral imaging / J. Zhao [et al.] // Applied Optics. – 2009. – V. 48. – №. 19. – P. 3557-3564

162 Li, X. Using wavelet transform and multi-class least square support vector machine in multi-spectral imaging classification of Chinese famous tea / X. Li [et al.] // Expert Systems with Applications. – 2011. – V. 38. – № 9. – P.11149-11159

163 Diniz, P.H.G.D., Using a simple digital camera and SPA-LDA modeling to screen teas / P.H.G.D. Diniz [et al.] // Analytical Methods. – 2012.– № 4. – P. 2648–2652.

164 Zhao, J. Identification of Geographical Indication Tea with Fisher's Discriminant Classification and Principal Components Analysis / J. Zhao [et al.] // Journal of Near Infrared Spectroscopy. – 2009. – № 17. P 159-164.

165 Chen, Q. Study on discrimination of Roast green tea (*Camellia sinensis* L.) according to geographical origin by FT-NIR spectroscopy and supervised pattern recognition / Q. Chen, J. Zhao, H. Lin // Spectrochimica Acta A 2009 72, 845–850.

166 Pedro, L. Study of catechin and xanthine tea profiles as geographical tracers / L. Pedro [et al.] // J. Agric. Food Chem. - 2002. - № 50. - P. 1833-1839

167 Ye, N. Geographical classification of green teas based on MEKC with laser-induced fluorescence detection / N. Ye // *Chromatographia* – 2010. – № 71. – P. 529–532.

168 Yu, J. Validation of an HPLC–DAD–ESI/MS/MS method for the classification of green teas / J. Yu [et al.] // *Food Chemistry* – 2010. – № 1022. – P. 1707–1719.

169 Zhao, Y. Tentative identification, quantitation, and principal component analysis of green pu-erh, green, and white teas using UPLC/DAD/MS / Y. Zhao [et al.] // *Food Chemistry* – 2011. – № 126. – P. 1269–1277.

170 Yi, T. Comparison of ten major constituents in seven types of processed tea using HPLC–DAD–MS followed by principal component and hierarchical cluster analysis / T. Yi [et al.] // *LWT – Food Science and Technology* – 2015. – № 62. – P. 194–201.

171 Pasquini, B. Chiral cyclodextrin–modified micellar electrokinetic chromatography and chemometric techniques for green tea samples origin discrimination / B. Pasquini [et al.] // *Talanta* – 2016. – № 150. – P. 7–13.

172 Li, D.–W. Determination and quality evaluation of green tea extracts through qualitative and quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) / D.–W. Li [et al.] // *Food Chemistry* – 2016. – № 197. – P. 1112–1120.

173 Fernandez–Craceres, P. L. Differentiation of Tea (*Camellia sinensis*) Varieties and Their Geographical Origin According to their Metal Content / P. L. Fernandez–Craceres [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2001. – V. 49. – № 10. – P. 4775–4779

174 Ma, G. Determining the geographical origin of Chinese green tea by linear discriminant analysis of trace metals and rare earth elements: Taking Dongting Biluochun as an example / G. Ma [et al.] // *Food Control*. – 2016. – № 59. – P. 714–720.

175 Marcos, A. Preliminary study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea / A. Marcos [et al.] // Journal of Analytical Atomic Spectrometry. – 1998. – № 13. – P. 521–525.

176 Diniz, P.H.G.D. Simplified tea classification based on a reduced chemical composition profile via successive projections algorithm linear discriminant analysis (SPA-LDA) / P.H.G.D. Diniz [et al.] // Journal of Food Composition and Analysis. – 2015. – №17. – P. 968–974.

177 Zhao, H. Relationship between multi-element composition in tea leaves and in provenance soils for geographical traceability / H. Zhao [et al.] // Food Control. – 2017. – № 37. – P. 517–524.

178 Herrador, M. A. Pattern recognition procedures for differentiation of Green, Black and Oolong teas according to their metal content from inductively coupled plasma atomic emission spectrometry/ M. A. Herrador, A.G. Gonzalez // Talanta. – 2001. – № 53. – P. 1249–1257.

179 Brzezicha-Cirocka, J. Monitoring of essential and heavy metals in green tea from different geographical origins / J.Brzezicha-Cirocka, M. Grembecka, P. Szefer // Environmental Monitoring and Assessment. – 2016. – V. 188. – №3. – P. 1–1

180 McKenzie, J. S. Characterisation of tea leaves according to their total mineral content by means of probabilistic neural networks / J. S. McKenzie, J. M. Jurado, F. Pablos // Food Chemistry – 2010. – № 123. – P. 859–864.

181 Chen, Y., Differentiation of eight tea (*Camellia sinensis*) cultivars in China by elemental fingerprint of their leaves / Y. Chen [et al.] // J. Sci. Food Agric. – 2009.– № 89. – P. 2350–2355.

182 Ercisli, S. Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity, plant nutritional elements, and fatty acids in tea leaves (*Camellia sinensis* var. *sinensis* clone Derepazari 7) grown in Turkey / S. Ercisli [et al.] // Pharm. Biol.– 2008.– № 46. – P. 683–687.

183 Falahi, E. Heavy metal content of black teas consumed in Iran / E. Falahi, R. Hedaiati // Food Addit. Contam. Part B. – 2013. – № 6. – P. 123–126.

184 Ramakrishna, R.S. Varietal variation and correlation of trace metal levels with 'catechins' and caffeine in Sri Lanka tea / R.S. Ramakrishna, S. Palmakumbura, A. Chatt // J. Sci. Food Agric.– 1987 – № 38. – P. 331–339.

185 Rashid, M.H. Determination of heavy metals in the soils of tea plantations and in fresh and processed tea leaves: an evaluation of six digestion methods / M.H. Rashid [et al.] // Chem. Cent. J. – 2016.–V. 10. – № 7. P. 1-13.

186 Zhao, H. Effects of geographical origin, variety, season and their interactions on minerals in tea for traceability / H. Zhao, C. Yu, M. Li // Journal of Food Composition and Analysis. – 2017. – № 63. – P. 15–20

187 ГОСТ 19885-74 Чай. Методы определения содержания танина и кофеина (с Изменениями N 1, 2) – Введ. 1975–07–01. - М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. – 4 с.

188 ГОСТ ISO 14502-2-2015 Чай. Метод определения содержания катехинов – Введ. 2017–01–01. – М.: Стандартиформ, 2019. – 19 с.

189 МУ 08-47/411 Методика (метод) измерений массовой концентрации никотиновой кислоты в пробах растворимого кофе методом капиллярного зонного электрофореза с применением стэкинга с большим объемом образца. Свидетельство об аттестации методики измерений 242/47-2008 от 04.06.2008 г.– Санкт-Петербург, 2008. –27 с.

190 Титаренко, В.О. Оценка качества и региональной принадлежности вин по многоэлементному составу почв и винограда: дис... канд. хим. наук: 02.00.02: Краснодар, 2016. 156 с.

191 Гуцаева, К.С. Классификация черного чая по происхождению на основе его электрофоретического профиля / К.С. Гуцаева, Т.Г. Цюпко, О.Б. Воронова // Аналитика и контроль. – 2020. – Т.24. – №1. – С.174-185

192 Ballus, C. A. Use of multivariate statistical techniques to optimize the simultaneous separation of 13 phenolic compounds from extra-virgin olive oil by capillary electrophoresis / C. A. Ballus [et al.] // Talanta. – 2011. –. V. 83.– № 4. P. 1181 – 1187.

193 Гуцаева, К.С. Определение кофеина, катехинов и галловой кислоты в черном чае различного происхождения / К.С. Гуцаева, Т.Г. Цюпко, О.Б. Воронова, Л.С. Малюкова// Аналитика и контроль. – 2020. – Т.24. – №1. – С.174-185

194 Андоралов, А.М Матричный эффект при анализе остаточных количеств пестицидов во фруктах и овощах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектированием / А.М. Андоралов, С.В. Кузнецов, М.Б. Афонин // Научно-технический вестник Брянского государственного университета – 2017.– №1.– С. 9-17

195 РМГ 61-2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки– Введ. 2012–09–01. - М.: Стандартиформ, 2013. – 58 с.

196 Малюкова, Л.С. Оптимизация плодородия почв и применения минеральных удобрений при выращивании чая в России / Л.С. Малюкова. – Сочи: ВНИИЦиСК, 2014. – 416 с.

197 Малюкова, Л.С. Оптимизация плодородия бурых лесных почв и применения минеральных удобрений при выращивании чая в условиях Черноморского побережья России: дис... д–ра биол. наук: 06.01.04: Сочи, 2013. 382 с.

198 Козлова, Н. В. Концептуальная модель эволюции плодородия бурых лесных кислых почв чайных плантаций влажных субтропиков России при агрогенном воздействии/ Козлова Н.В., Малюкова Л.С., Керимзаде В. В. – Сочи: ВНИИЦиСК, 2020. – 76 с.

199 Притула, З. В. Влияние мезоудобрений (Са, Mg) на содержание кофеина в чайном растении в условиях влажных субтропиков России / З. В. Притула, В. Н. Бехтерев, Л. С. Малюкова // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2015.– № 54. – С. 185–192.

200 Белоус, О. Г. Физиологические особенности растений чая в различных почвенно-климатических условиях / О. Г. Белоус, А. В. Рындин // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2008. – № 3. – С. 49–51.

201 Белоус, О. Г. Биологические особенности культуры чая в условиях влажных субтропиков России: дис. ... д-ра биол. наук: 06.01.07 / Белоус Оксана Геннадьевна. – Краснодар, 2009. – 314 с.

202 Притула, З. В. Особенности влияния комплекса экологических факторов на биохимические показатели качества чая сорта Колхида в условиях субтропиков России / З. В. Притула, Л. С. Малюкова, Н. В. Козлова // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2009. – № 42–2. – С. 86–103.

203 Бушин, П. М. Влияние минеральных удобрений на урожайность и качество чая сорта Колхида в условиях субтропиков России / П. М. Бушин, З. В. Притула, Л. С. Малюкова // Бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института агрохимии им. Д. Н. Прянишникова. – 2001. – № 114. – С. 68–69.

204 Белоус, О. Г. Влияние микроэлементов на повышение качества чая / О. Г. Белоус // Садоводство и виноградарство. – 2006. – № 6. – С. 18–20

205 Платонова, Н. Б. Биохимический состав чая и его изменения под влиянием различных факторов / Н. Б. Платонова, О. Г. Белоус // Техника и технология пищевых производств. – 2020. – Т. 50. – № 3. – С. 404–414

206 Рындин, А. В. Особенности элементного состава краснодарского чая сорта Колхида / А. В. Рындин, Л. С. Малюкова, Т. Г. Цюпко, Н. В. Козлова, О. Б. Воронова, Гуцаева К. С. // Новые технологии. – 2018. – № 4. – С. 224–229

207 Малюкова, Л. С. Содержание тяжёлых металлов в 3-листной флешки чая сорта «Колхида» в условиях влажно-субтропической зоны России / Л. С. Малюкова, Т. Г. Цюпко, З. В. Притула, О. Б. Воронова, А. В. Великий, Гуцаева К. С. // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2019. – № 68. – С. 216–221

208 Касимов, Н.С. Кларки химических элементов как эталоны сравнения в экогеохимии / Н.С. Касимов, Д.В. Власов // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 5. География. – 2015. – № 2. – С. 7-17

209 Lamble K. Determination of trace metals in tea using both microwave digestion at atmospheric pressure and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry / K. Lamble, S. J. Hill // Analyst. – 1995. – № 120. – С. 413-417

210 Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях / А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас. – М.: Мир, 1989. – 439 с.

211 Золотов Ю.А. Применение тест-методов для анализа пищевых продуктов [Электронный ресурс] / Ю. А. Золотов, М. М. Залетина // Контроль качества продукции. – 2000. – Режим доступа <https://ria-stk.ru/mos/adetail.php?ID=8237> (дата обращения 06.10.2022)

212 ГОСТ Р 59700-2021 Чай краснодарский. Технические условия. – Введ. 2022–03–01. – М.: ФГБУ "РСТ", 2021. – 9с.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

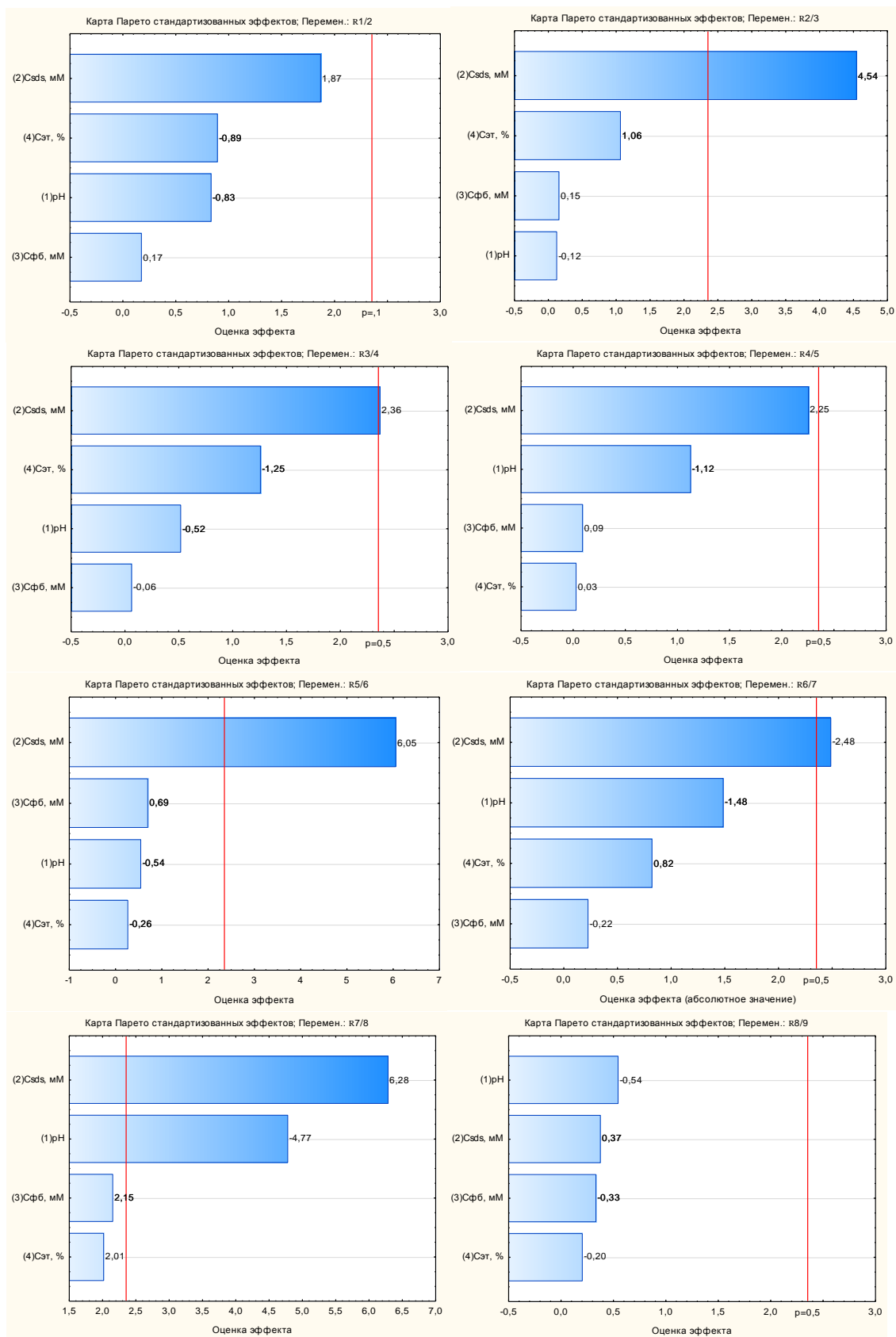


Рисунок А.1 Диаграммы Парето для откликов функции ДФП разрешение соседних пиков электрофореграммы (R).

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б. 1 – Значения медианы и диапазона содержаний кофеина, катехинов и галловой кислоты в группах чая различного региона произрастания

Аналит	Содержание мг/г					
	Ассамский (N=16)		Индийский (N=20)		Кенийский (N=14)	
	Медиана	Диапзон	Медиана	Диапзон	Медиана	Диапзон
ГКт	0,55	0,41-0,73	0,52	0,4-0,68	0,45	0,39-0,54
Кф	27,0	22,5-38,9	24,27	16,1-30,1	23,84	19,13-30,51
Кт	0,40	0,29-0,53	0,53	0,33-0,65	0,99	0,86-1,42
ЭГК	1,00	0,65-1,36	1,06	0,67-1,46	1,22	0,68-1,78
ЭГКГ	4,59	4,4-5,9	5,79	5,01-7,28	7,13	5,98-8,49
ЭКт	1,23	0,82-1,50	1,08	0,65-1,45	2,36	1,85-3,07
ГКГ	0,21	0,16-0,28	0,18	0,11-0,25	0,14	0,10-0,16
ГК	2,05	1,75-2,79	2,27	1,69-3,0	2,28	1,77-2,65
ЭКГ	4,48	3,82-5,24	4,55	3,96-5,83	5,23	4,48-6,01
Аналит	Китайский (N=9)		Цейлонский (N=39)		Краснодарский (N=23)	
	Медиана	Диапзон	Медиана	Диапзон	Медиана	Диапзон
ГКт	3,29	2,74-5,94	0,52	0,31-0,68	0,47	0,40-0,58
Кф	14,88	14,07-18,99	26,19	19,02-48,33	30,96	22,79-39,39
Кт	0,19	0,17-0,24	0,46	0,28-0,77	0,49	0,37-0,66
ЭГК	0,20	0,12-0,22	1,16	0,67-1,91	1,59	1,15-1,93
ЭГКГ	1,46	1,37-1,56	8,36	6,35-10,56	3,79	3,44-4,39
ЭКт	1,02	0,85-1,26	1,55	1,10-2,31	0,85	0,66-1,15
ГКГ	0,04	0,03-0,04	0,20	0,08-0,26	0,15	0,12-0,21
ГК	1,48	1,28-1,82	2,49	1,50-3,56	3,21	2,50-3,88
ЭКГ	2,16	2,00-2,33	5,67	4,55-8,38	2,69	2,55-2,93

Таблица Б. 2 – Значения среднего, минимума и максимума содержаний элементов в группах чая различного региона происхождения (модель 2)

Элемент		K	Ca	Mg	Al	Mn	Fe	Ba	Na	Zn	Cu	Ni	Sr	Ti	Cr	Pb	Co	Li	Cd	Mo
Цейлон (N=24)	Сред., мкг/г	19442	3804	1951	665	384	78	10,9	42,0	16,9	12,2	2,9	13,3	2,5	0,24	0,32	0,07	0,07	0,01	0,08
	Мин., мкг/г	15610	2818	1698	459	244	52	6,6	20,2	13,5	10,1	1,9	9,4	1,9	0,16	0,17	0,02	0,03	0,00	0,02
	Макс., мкг/г	23720	4663	2169	1184	757	119	22,1	78,2	21,9	14,0	4,3	19,6	3,9	0,33	0,49	0,10	0,15	0,01	0,12
Ассам (N=14)	Сред., мкг/г	20264	4584	2200	764	879	88	29,3	8,9	24,3	16,8	5,7	14,2	2,2	0,98	0,50	0,15	0,12	0,02	0,09
	Мин., мкг/г	16597	3909	1826	560	762	54	23,8	4,6	21,4	11,9	3,9	11,5	1,5	0,67	0,32	0,09	0,10	0,01	0,05
	Макс., мкг/г	24213	5221	2507	1099	1123	120	37,7	12,2	28,9	20,0	7,6	19,0	3,0	1,25	0,65	0,24	0,16	0,03	0,11
Индия (N=15)	Сред., мкг/г	18795	4960	2020	1010	812	103	27,6	8,9	23,7	15,7	6,7	15,2	3,9	1,03	0,46	0,15	0,13	0,02	0,09
	Мин., мкг/г	16271	3608	1475	611	540	62	17,4	5,3	21,1	10,5	4,1	9,7	2,5	0,65	0,21	0,10	0,10	0,01	0,06
	Макс., мкг/г	21423	6563	2906	1400	1242	177	41,0	12,7	31,6	19,8	10,7	22,1	5,6	1,47	0,70	0,22	0,20	0,03	0,12
Кения (N=16)	Сред., мкг/г	17385	3773	1989	634	946	128	25,5	10,3	22,0	17,3	4,6	48,1	5,9	0,46	0,53	0,06	0,12	0,02	0,08
	Мин., мкг/г	12391	2643	1677	448	790	85	13,1	5,5	16,0	10,2	2,6	29,1	3,2	0,28	0,31	0,03	0,07	0,01	0,03
	Макс., мкг/г	20670	5113	2389	1080	1713	191	35,6	14,9	30,8	24,8	6,7	67,1	9,8	0,75	0,82	0,08	0,16	0,04	0,12

Элемент		K	Ca	Mg	Al	Mn	Fe	Ba	Na	Zn	Cu	Ni	Sr	Ti	Cr	Pb	Co	Li	Cd	Mo
Краснодар (N=26)	Сред., мкг/г	18129	2163	2032	260	804	45	7,5	11,2	28,8	10,1	8,2	5,9	1,0	0,28	0,24	0,25	0,07	0,02	0,08
	Мин., мкг/г	14746	1321	1498	130	488	31	4,1	6,4	17,5	8,3	4,5	3,0	0,3	0,19	0,11	0,10	0,02	0,01	0,04
	Макс., мкг/г	25249	3412	2449	372	1117	72	11,8	16,7	36,9	13,4	14,7	10,1	1,3	0,56	0,37	0,42	0,10	0,04	0,13
Китай (N=20)	Сред., мкг/г	17634	3558	2031	652	660	106	16,1	14,0	27,4	15,5	4,9	11,7	3,1	0,60	0,44	0,15	0,11	0,03	0,06
	Мин., мкг/г	8084	986	1306	81	64	49	9,5	6,8	13,6	8,1	2,7	7,3	1,5	0,31	0,26	0,07	0,06	0,02	0,04
	Макс., мкг/г	22114	4837	2559	1241	918	218	28,7	19,8	40,8	23,1	7,5	17,9	4,6	0,90	0,65	0,25	0,19	0,04	0,11

Таблица Б. 3 – Значения среднего, минимума и максимума содержаний, исследуемых показателей в группах чая ассамского, индийского и кенийского региона произрастания (модель 3)

Показатель	Ассам (N=13)			Индия (N=12)			Кения (N=15)		
	Среднее	Минимум	Максимум	Среднее	Минимум	Максимум	Среднее	Минимум	Максимум
ЖВС 10 мМ, ГК/г	0,28	0,15	0,43	0,23	0,13	0,36	0,29	0,14	0,43
ЖВС 60 мМ, ГК/г	0,31	0,16	0,45	0,26	0,15	0,41	0,30	0,15	0,46
Кф, мг/г	26,0	11,3	34,8	21,4	11,6	29,8	20,3	10,6	25,5
ГКт, мг/г	0,54	0,41	0,70	0,53	0,25	0,90	0,59	0,27	0,95
Кт, мг/г	0,42	0,32	0,58	0,43	0,23	0,64	0,85	0,43	1,22
ЭГК, мг/г	0,98	0,54	1,49	0,82	0,40	1,26	1,09	0,59	1,61
ЭГКГ, мг/г	4,8	3,3	7,7	4,6	2,5	6,9	5,7	2,6	9,3
ЭКт, мг/г	1,02	0,55	1,60	0,68	0,34	1,07	1,89	1,08	3,23
ГКГ, мг/г	1,48	0,85	1,90	1,32	0,16	1,68	1,23	0,72	1,65
ГК, мг/г	2,4	1,7	4,5	2,2	1,1	3,4	1,8	0,8	2,9
ЭКГ, мг/г	4,2	2,8	6,6	3,7	2,0	5,0	4,2	2,1	7,5

Показатель	Ассам (N=13)			Индия (N=12)			Кения (N=15)		
	Среднее	Минимум	Максимум	Среднее	Минимум	Максимум	Среднее	Минимум	Максимум
K, мкг/г	20169	16597	24213	18863	16271	21423	17263	12391	20670
Ca, мкг/г	4453	2812	5221	4945	3608	6078	3688	2643	5113
Mg, мкг/г	2189	1933	2507	2057	1589	2906	1962	1677	2346
Al, мкг/г	718	525	1077	1189	611	1630	629	448	1080
Mn, мкг/г	838	414	1123	811	540	1242	955	807	1713
Fe, мкг/г	87	54	128	102	62	162	124	68	191
Ba, мкг/г	27,8	16,6	36,2	27,6	17,4	41,0	21,9	10,2	32,1
Na, мкг/г	9,7	4,6	15,5	9,1	7,1	14,2	11,2	6,2	20,0
Zn, мкг/г	24,9	20,6	32,5	23,2	21,1	25,6	21,0	16,0	25,4
Cu, мкг/г	17,4	11,9	25,1	15,8	10,5	19,2	16,1	10,2	20,0
Ni, мкг/г	5,0	2,7	7,6	6,4	3,7	10,3	4,1	2,3	7,8
Sr, мкг/г	13,4	9,0	18,2	14,9	9,7	19,0	47,5	29,1	64,9
Ti, мкг/г	2,37	1,49	3,73	3,78	2,30	5,56	4,97	2,74	6,71
Cr, мкг/г	1,03	0,68	1,78	1,05	0,56	1,52	0,49	0,28	0,85
Pb, мкг/г	0,48	0,28	0,75	0,44	0,21	0,62	0,49	0,19	0,72
Co, мкг/г	0,15	0,11	0,24	0,15	0,10	0,21	0,06	0,03	0,09
Li, мкг/г	0,12	0,08	0,16	0,13	0,10	0,20	0,11	0,07	0,16
Cd, мкг/г	0,020	0,010	0,040	0,020	0,010	0,030	0,030	0,010	0,050
Mo, мкг/г	0,090	0,050	0,120	0,090	0,070	0,120	0,090	0,050	0,140
V, мкг/г	0,070	0,040	0,120	0,110	0,060	0,150	0,150	0,110	0,190
Mn, мкг/г	0,020	0,010	0,030	0,020	0,010	0,030	0,110	0,050	0,150

Таблица Б. 4 – Значения среднего, минимума и максимума содержаний, исследуемых показателей в группах чая Краснодарского, китайского и цейлонского региона произрастания (модель 3)

Показатель	Краснодар (N=15)			Китай (N=6)			Цейлон (N=27)		
	Среднее	Минимум	Максимум	Среднее	Минимум	Максимум	Среднее	Минимум	Максимум
ЖВС 10 мМ, ГК/г	0,25	0,12	0,45	0,28	0,19	0,43	0,30	0,11	0,44
ЖВС 60 мМ, ГК/г	0,28	0,15	0,44	0,34	0,24	0,50	0,32	0,12	0,49
Кф, мг/г	29,5	21,6	48,1	17,3	14,4	19,0	27,7	13,2	63,9
ГКТ, мг/г	0,48	0,31	0,83	4,09	2,74	5,94	0,53	0,25	0,93
КТ, мг/г	0,49	0,22	0,85	0,19	0,17	0,22	0,50	0,18	1,00
ЭГК, мг/г	1,40	0,49	1,93	0,18	0,12	0,22	1,09	0,52	2,01
ЭГКГ, мг/г	4,5	3,0	8,0	1,5	1,4	1,6	8,1	2,5	15,4
ЭКТ, мг/г	0,94	0,30	1,42	1,13	1,00	1,26	1,45	0,63	2,74
ГКГ, мг/г	0,45	0,21	0,69	0,04	0,03	0,04	1,55	0,84	2,18
ГК, мг/г	2,8	1,3	3,9	1,6	1,3	1,8	2,4	1,1	4,0
ЭКГ, мг/г	3,1	2,5	5,4	2,2	2,1	2,3	5,6	2,0	11,7
К, мкг/г	20870	16084	25249	20263	17542	22114	19319	15610	23720
Са, мкг/г	3378	1957	5117	3617	2999	4413	3824	2818	4941
Mg, мкг/г	2005	1498	2449	1909	1306	2310	1953	1606	2224
Al, мкг/г	511	140	809	653	511	809	674	459	1184
Mn, мкг/г	1034	615	2033	609	402	833	389	244	757
Fe, мкг/г	57	33	85	85	62	105	76	52	144
Ba, мкг/г	15,7	10,0	23,4	14,2	9,5	18,0	10,8	6,6	20,4
Na, мкг/г	9,4	5,0	16,0	15,7	8,7	19,8	37,5	16,6	78,2
Zn, мкг/г	26,9	15,1	34,9	26,5	21,8	32,3	18,2	13,5	52,9
Cu, мкг/г	11,7	8,3	19,8	14,1	10,4	21,2	12,2	10,1	13,9
Ni, мкг/г	8,9	2,9	15,4	6,3	4,5	9,0	2,8	1,7	5,2
Sr, мкг/г	14,6	8,2	20,2	11,6	8,1	16,7	12,9	9,4	19,6

Показатель	Краснодар (N=15)			Китай (N=6)			Цейлон (N=27)		
	Среднее	Минимум	Максимум	Среднее	Минимум	Максимум	Среднее	Минимум	Максимум
Ti, мкг/г	1,83	1,02	2,96	2,81	2,10	4,00	2,54	1,72	5,28
Cr, мкг/г	0,54	0,29	0,93	0,49	0,28	0,73	0,26	0,17	0,68
Pb, мкг/г	0,31	0,15	0,43	0,48	0,32	0,61	0,35	0,17	0,57
Co, мкг/г	0,25	0,10	0,42	0,09	0,07	0,11	0,08	0,03	0,13
Li, мкг/г	0,10	0,06	0,18	0,10	0,07	0,14	0,08	0,05	0,13
Cd, мкг/г	0,030	0,010	0,050	0,020	0,010	0,030	0,004	0,001	0,008
Mo, мкг/г	0,110	0,030	0,170	0,090	0,050	0,110	0,082	0,038	0,127
V, мкг/г	0,040	0,020	0,070	0,060	0,040	0,100	0,068	0,046	0,118
Mn, мкг/г	0,040	0,020	0,070	0,010	0,010	0,020	0,014	0,005	0,030