

На правах рукописи



Гушаева Кристина Сергеевна

УСТАНОВЛЕНИЕ РЕГИОНА ПРОИЗРАСТАНИЯ ЧЕРНОГО ЧАЯ НА ОСНОВЕ
ЕГО КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА

1.4.2 - Аналитическая химия (химические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Краснодар 2023

Работа выполнена на кафедре аналитической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный университет»

- Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Цюпко Татьяна Григорьевна
- Официальные оппоненты: доктор химических наук, доцент, профессор
кафедры аналитической химии ФГАОУ ВО
«Казанский (Приволжский) федеральный
университет»
Зиятдинова Гузель Камилевна
- кандидат химических наук, доцент
кафедры органической химии ФГБОУ ВО
«Санкт-Петербургский государственный
университет»
Бессонова Елена Андреевна
- Ведущая организация: ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства, виноградарства,
виноделия», г. Краснодар

Защита диссертации состоится «18» мая 2023 г. в 15.30 часов на заседании диссертационного совета 24.2.320.05, созданного на базе ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», по адресу: 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, д. 149, ауд. 3030Л.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», по адресу: 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, д. 149 на сайтах ВАК Министерства науки и высшего образования РФ <http://vak.minobrnauki.gov.ru/> и ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет» <http://www.kubsu.ru/>.

Автореферат разослан «___» марта 2023 г

Ученый секретарь
диссертационного совета

Киселева Наталия Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 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», т.е. не купажированного, чая с известными или контролируемыми характеристиками по сорту и региону произрастания растения, а также рассматриваются климатические и почвенные особенности возделывания культуры, технологические приемы его переработки. 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 показателей, предусмотренных нормативными документами, 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 государственного университета.

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 (ЖВС) черного чая различных регионов произрастания и взаимосвязи между этими характеристиками.

2. Установление особенностей минерального состава краснодарского чая с использованием системы почва – физиологически зрелый лист – флешь. Выявление компонентов, содержания которых значимо 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: $S_{ГКм}/S_{Км}$, $S_{Км}/S_{ГКГ}$, $S_{Км}/S_{ЭКГ}$, $S_{ЭКм}/S_{ГКГ}$, $S_{ГКГ}/S_{ЭКГ}$ ¹.

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*, *ГКм*, *ГКГ*, *Кт* и *ЖВС* (модель 3).

Практическая значимость работы.

Оптимизирована методика одновременного определения *Кф*, *Кт*, *ЭКГГ*, *ЭКт*, *ЭКГ*, *ЭКГ*, *ГКГ*, *ГКт* и *ГК* 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: $S_{Кф}/S_{Кт}$, $S_{Кф}/S_{ЭКт}$, $S_{ЭКГГ}/S_{ЭКГ}$ – для китайского, $S_{ГКм}/S_{Км}$, $S_{ГКм}/S_{ЭКГ}$, $S_{Км}/S_{ГКГ}$ – кенийского, $S_{Кф}/S_{ГК}$, $S_{ЭКГ}/S_{ЭКГ}$, $S_{ГК}/S_{ЭКГ}$ – 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:

¹ *Кф* – кофеин, *Кт* – катехин, *ЭКГГ* – эпигаллокатехин галлат, *ЭКт* – эпикатехин, *ЭКГ* – эпигаллокатехин, *ЭКГ* – эпикатехин галлат, *ГКГ* – галлокатехин галлат, *ГКт* – галлокатехин, *ГК* – галловая кислота

Оптимизация условий одновременного определения катехинов (*Km*, *ЭГКГ*, *ЭКм*, *ЭГК*, *ЭКГ*, *ГКГ*, *ГКм*), 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, 2020г.).

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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении дано обоснование актуальности темы, практической значимости работы, сформированы цели и задачи исследования.

В обзоре литературы рассмотрены технология получения черного чая, особенности формирования его полифенольного и минерального состава. Обсуждены основные методы исследования компонентного состава чая и хемометрические методы установления региональной принадлежности. Сделаны выводы к обзору литературы и сформулированы задачи диссертационного исследования.

В экспериментальной части указаны объекты исследования, реактивы, материалы, методы и методики проведения анализа. Объектами исследования являлись оригинальные

образцы чая черного байхового, отличающиеся регионом произрастания: цейлонский, китайский, индийский, кенийский и ассамский. А также образцы почв, листьев чайного растения и черного чая, изготовленного из сырья, выращенного в условиях Краснодарского края, предоставленные лабораторией Всероссийского НИИ цветоводства и субтропических культур, г. Сочи.

Анализ минерального состава (*K, Ca, Mg, Fe, Mn, Al, Zn, Na, Sr, Ba, Cu, Ni, Pb, Cr, Li, V, Ti, Co, Cd, Mo*) образцов чая и почв проводили методом ИСП-АЭС на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно связанной плазмой «iCAP 6000» (Thermo Fisher Scientific, США), при длинах волн свободных от спектральных наложений. Образцы почв, чайного листа и чая перед проведением анализа подвергали кислотной минерализации (окислитель – азотная кислота) в микроволновой лабораторной системе Mars-6.

Электрофоретическое разделение компонентов водных экстрактов чая проводили с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель 105» (Люмэкс, Россия) 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. Экстракт чая готовили в соответствии с ГОСТ 19885–74.

Оценку величины железовосстанавливающей способности черного чая проводили методом FRAP с индикаторной системой Fe(III) – *o*-фенантролин (при концентрации компонентов 0,12 и 0,20 ммоль/дм³ соответственно) в пересчете на вещество-стандарт – галловая кислота. Измерение оптической плотности растворов проводили при $\lambda=500\pm 10$ нм на спектрофотометре «LEKI SS2107» (LEKI Instruments, Финляндия).

В обсуждении результатов рассмотрена оптимизация условий определения кофеина, катехинов и галловой кислоты методом МЭКХ. Изучены особенности минерального состава чая, выращенного в условиях Краснодарского края. Исследованы подходы к установлению региональной принадлежности черного чая на основе концентрационного и электрофоретического профилей экстрактов чая.

Оптимизация условий определения кофеина, катехинов и галловой кислоты методом мицеллярной электрокинетической хроматографии

При оценке качества и контроле подлинности пищевых продуктов растительного происхождения актуальными становятся подходы по поиску веществ-маркеров и методов распознавания образов, предусматривающих выявление профилей различной природы как единой характеристической особенностью продукта, позволяющей получать классификационную модель объектов исследования. Проф. *Карцова Л.А. с сотр.* показала высокую эффективность и чувствительность метода МЭКХ при изучении полифенолов чая и возможность получения профиля чайной продукции. Для разделения катехинов в чае в основном используются рабочие электролиты со значением рН 6,0–8,0: фосфатные, фосфатно–боратные и боратные буферные растворы, реже применяются кислые буферные системы. В качестве мицеллообразователя используется додецилсульфат натрия, а органическими модификаторами могут быть метиловый, этиловый спирт, мочевины и β -циклодекстрин.

Наиболее распространенный подход при выборе условий определения аналитов заключается в изменении одного фактора при сохранении постоянства остальных. Однако такая процедура учитывает не все эффекты взаимодействия между экспериментальными переменными, оказывающими влияние на разделение сигналов аналитов. Эти недостатки можно устранить, используя методы планирования эксперимента.

Для оптимизации условий совместного определения $Kф$, $Kт$, $ЭГКГ$, $ЭКт$, $ЭК$, $ЭКГ$, $ГКГ$, $ГКт$ и $ГК$ в экстрактах чая методом МЭХ применили дробный факторный план типа 2^{4-1} (ДФП). ДФП включал варьирование четырех факторов: концентрации ($C_{ФБ}$) и рН фонового электролита (фосфатного буферного раствора), концентрации мицеллообразователя – додецилсульфата натрия ($C_{ДДСН}$) и содержания органического модификатора – этилового спирта ($C_{Эт}$). Выбранные уровни факторов составляли 20 и 35 мМ для концентрации фосфатного буферного раствора (ФБ); 15 и 50 мМ для концентрации ДДСН; 7 и 8 для рН, а также 4 и 7% для этилового спирта.

В качестве зависимых переменных (откликов) функции ДФП использовали время выхода последнего компонента (t , мин), силу тока в системе (I , мкА), а также разрешение соседних пиков электрофореграммы (R). Применение к полученным результатам экспериментов ДФП диаграмм Парето, позволило определить факторы, оказывающие статистически значимое влияние на исследуемые зависимые переменные: I – $C_{ФБ}$, $C_{ДДСН}$, рН; t – $C_{ДДСН}$, рН; R – $C_{ДДСН}$, $R_{ГК}$ – $C_{ДДСН}$, рН. В последнем случае наряду с концентрацией мицеллообразователя необходимо учитывать фактор рН, так как галловая кислота при этих условиях находится в форме аниона.

Анализ профилей прогнозируемых значений показал, что наиболее сложно разрешающимися парами являются $Kф/Kт$ и $ЭГКГ/ЭКт$, и для их оптимального разрешения ($R \geq 2$) концентрация ДДСН должна быть не менее 30 мМ (рисунок 1).

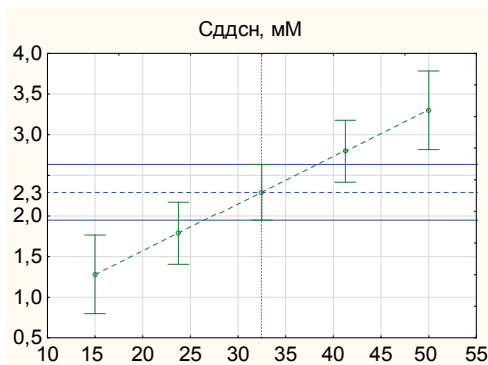


Рисунок 1 – Профиль прогнозируемого значения разрешения для пары $Kф/Kт$ от концентрации мицеллообразователя

Для определения оптимальных значений рН и концентрации ФБ получили графики поверхностей для откликов сила тока в системе и время анализа. Рассмотрение поверхностей откликов позволило определить, что значения концентрации и рН фонового электролита при силе тока в системе, не превышающей рекомендованную, и минимальном времени анализа должны составлять 25 мМ и 7,4 соответственно (рисунок 2).

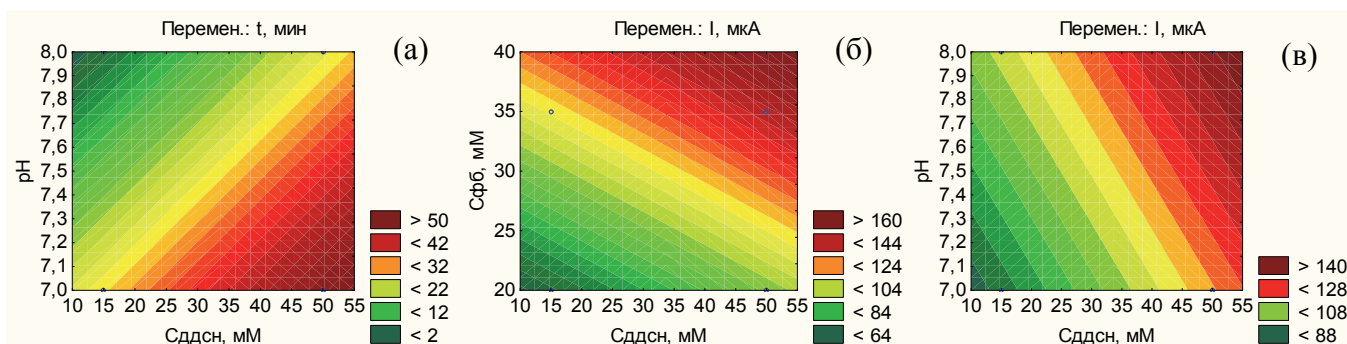


Рисунок 2 – Поверхности отклика для зависимых переменных: время анализа от $S_{ддсн}$ и pH (а), сила тока в системе от $S_{ддсн}$ и $C_{фб}$ (б), сила тока в системе от $S_{ддсн}$ и pH (в)

Проверку адекватности модели ДФП проводили сопоставлением экспериментальных и предсказанных значений. Во всех случаях предсказанные значения факторов были близки к экспериментальным. Это свидетельствует об удовлетворительном описании экспериментальных данных предложенной моделью.

С учетом проведенных исследований выбрали оптимальные условия определения катехинов, кофеина и галловой кислоты – 25 мМ фосфатный буферный раствор с pH 7,4, содержащий 30 мМ ДДСН и 5% этилового спирта. В этих условиях все пики хорошо разрешены ($R > 2$), время анализа составило 25 минут, а сила тока в системе не превышала 120 мкА. Электрофореграмма экстракта черного чая, зарегистрированная в оптимальных условиях, представлена на рисунке 3.

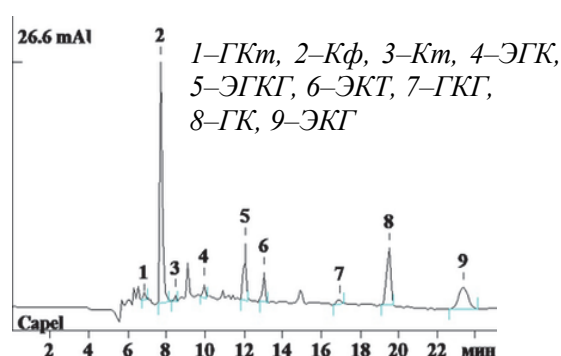


Рисунок 3 – Электрофореграмма экстракта черного чая в оптимальных условиях

Оценку метрологических характеристик методики определения кофеина, катехинов и галловой кислоты проводили в соответствии с требованиями РМГ 61-2010 (таблица 1).

Таблица 1 – 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
Динамический диапазон измерений	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
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

Методика апробирована на образцах физиологически зрелого чайного листа, 3-х-листных флешей и чае различной степени ферментации (таблица 2), и показана возможность ее применения для дальнейших исследований.

Таблица 2 – Содержания кофеина, катехинов и галловой кислоты в образцах чая (n=3, P= 0,95)

Ана-лит	Содержание аналитов (мг/г) в образцах чая				
	Физиологи-чески зрелый лист	3-х – листовая флешь	Чай зеленый "Краснодарский"	Чай черный "Солнечная долина"	Чай черный "Рухуна"
ГКт	6,2±0,4	6,5±0,5	5,4±0,5	0,87±0,05	0,39±0,03
Кф	12,5±0,4	42±2	33±2	27±1	32±1
Кт	0,64±0,06	1,6±0,2	1,9±0,2	1,5±0,1	0,62±0,05
ЭГК	26±2	31±2	16±2	2,8±0,2	1,4±0,1
ЭГКГ	20±1	93±8	68±6	4,6±0,4	12,2±0,9
ЭКт	3,7±0,4	5,2±0,6	4,8±0,6	5,2±0,6	1,6±0,2
ГКГ	2,9±0,1	10,1±0,7	11,8±0,9	1,58±0,08	1,44±0,09
ГК	0,27±0,02	0,72±0,06	1,5±0,1	8,8±0,7	3,5±0,2
ЭКГ	4,1±0,2	18±1	13±1	13±1	8,0±0,5

Изучение компонентного состава чая, выращенного в условиях Краснодарского края

Известно, что минеральный состав растительного материала отражает минеральный состав почв мест его произрастания. При этом ряд компонентов может накапливаться в растениях, что обусловлено их ботаническими особенностями. В случае накопления элементов в растении, состав почвы под монокультурой претерпевает изменение. Изучение взаимосвязи минеральных составов объектов в системе почва – растение (в частности, вегетативные органы) позволяет выделить вещества-маркеры, характерные для этой системы.

Исследования проводили на образцах чая, чайного листа и почв, отобранных на наиболее типичных продуктивных плантациях, расположенных на Черноморском побережье Краснодарского края в трех микрорайонах (таблица 3).

Таблица 3 – Характеристики исследуемых чайных плантаций

Микрорайон	I	III	IV
Плантации	Чайные домики верхняя (ЧДВ) и нижняя (ЧДН), Волковка (В), Баканеевский (Б), Опытная плантация Дагомыс (Д) Дагомысский район	Мишина Солохаульский район	Кряж Мацестинский район
Высота н.у.м., м	до 100	~ 660	до 100
Тип почв	бурые лесные кислые и бурые лесные кислые оподзоленные		
Бонитет, балл	81	59	38
Урожайность, ц/га	64,8	47,2	30,4

Предварительные исследования показали статистически незначимое изменение содержания металлов в слоях почв чайных плантаций 0-20, 20-40 и 40-60 см. Это позволяет

производить отбор почвы с глубины 0-40см. Необходимо отметить, что этот слой является и основным корнеобитаемым слоем чайного куста.

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. Сравнение средних содержаний металлов в образцах почв чайных плантаций I, III и IV микрозон показало, что относительно земной коры в агропочвах околочларковые значения характерны для *Pb*, *Co*, для I микрозоны так же *Fe*, *Mn*, а содержания остальных изучаемых элементов значительно ниже кларка (таблица 4).

Таблица 4 – Содержания металлов в кларке и почвах чайных плантаций I, III и IV микрозон

Элемент	Показатель	Микрозона			Содержание в кларке*, мг/кг	Элемент	Показатель	Микрозона			Содержание в кларке*, мг/кг
		I	III	IV				I	III	IV	
K	С, мг/кг	9699	434	675	23240 ³	Sr	С, мг/кг	31,5	10,4	8,7	270 ¹
	КР**	2,4	53,5	34,4			КР	8,6	26	30,9	
Ca	С, мг/кг	761	642	707	25660 ³	Ba	С, мг/кг	136	35,3	20,3	628 ³
	КР	34	40	36			КР	4,6	17,8	31	
Mg	С, мг/кг	6292	1231	1607	14950 ³	Cu	С, мг/кг	16,1	16	16,3	27 ²
	КР	2,4	12,1	9,3			КР	1,7	1,7	1,7	
Fe	С, мг/кг	36499	16969	19423	40600 ¹	Pb	С, мг/кг	17,6	19,6	13,6	17 ¹
	КР	1,1	2,4	2,1			КР	1,0	0,9	1,2	
	КК**	0,9	0,42	0,48			КК	1,0	1,2	0,8	
Mn	С, мг/кг	879	777	911	770 ¹	Co	С, мг/кг	16,3	7,7	10,1	15 ²
	КР	0,9	1,0	0,8			КР	0,9	2,0	1,5	
	КК	1,1	1,0	1,2			КК	1,1	0,5	0,7	
Al	С, мг/кг	40384	15191	13673	76100 ¹	Ni	С, мг/кг	16,0	11,0	13,8	50 ¹
	КР	1,9	5,0	5,6			КР	3,1	4,6	3,6	
Zn	С, мг/кг	57,4	27,6	38,7	75 ¹	Cr	С, мг/кг	43,8	22,7	18,9	92 ¹
	КР	1,3	2,7	1,9			КР	2,1	4,0	4,9	
Na	С, мг/кг	37,4	16,4	9,5	24260 ³	Ti	С, мг/кг	320	13,7	17,3	3900 ¹
	КР	649	1479	2564			КР	12,2	284	226	

* Содержание элемента в кларке по: 1. Григорьеву Н.А., 2. Z. Hu, S. Gao, 3. R.L. Rudnick, S. Gao [Н.С. Касимов, Д.В. Власов // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 5. География. – 2015. – № 2. – С. 7-17]

**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

Рассматриваемые чайные плантации являются сформированными, о чем свидетельствует изменение в них содержаний металлов по сравнению с содержанием металлов в фоне, в качестве которого принята почва прилегающих лесных участков. В почвах чайных плантаций по сравнению с фоном наблюдается тенденция к уменьшению содержаний *K*, *Ca*, *Mg*, *Fe*, *Mn*, *Co*, увеличению для *Mo* и практически не изменяются содержания *Al*, *Si*, *Na*, *Sr*, *Ba*, *Cu*, *Pb*, *Cr*, *Li*, *Ti* ($0,9 \leq C_{\text{Me пл}} / C_{\text{Me фон}} \leq 1,1$) (рисунок 4).

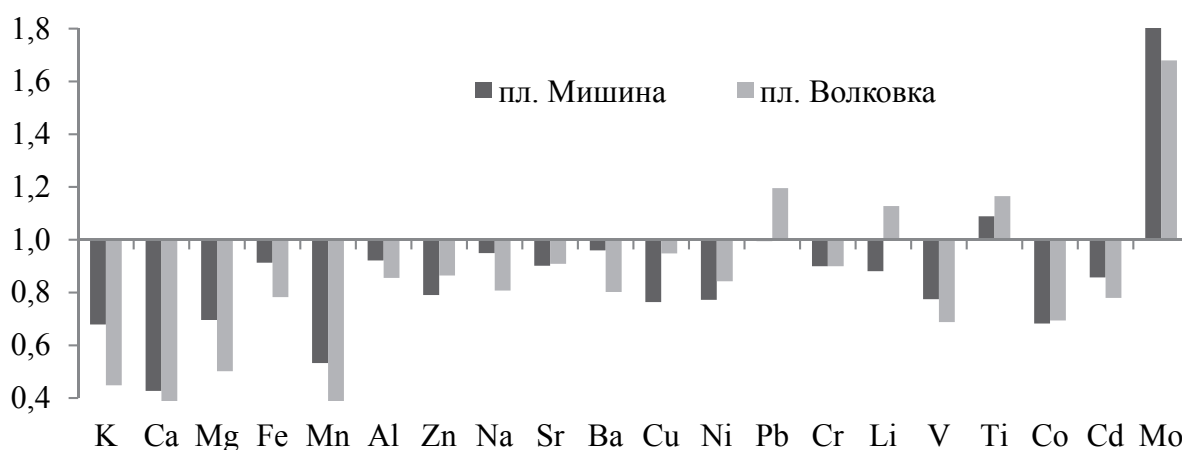


Рисунок 4 – Отношение металлов в почве чайных плантаций и фона

Способность чайных листьев к накоплению металлов оценивали на основе коэффициентов биоаккумуляции (КБА) металлов в системе почва – физиологически зрелый лист – флешь на примере усредненных данных для плантаций I микрзоны. КБА рассчитывали как отношение концентраций металлов (мкг/г) в чайных листьях и почве. Значения КБА уменьшаются в следующем порядке:

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

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

Установлена высокая аккумуляция *K*, *Ca*, *Mn* и *Sr* во флешах и физиологически зрелом листе (КБА>1). Кроме того, сравнение содержаний металлов в листьях чая показало накопление во флешах *K*, *Zn*, *Mg*, *Co*, *Ni* и *Mo*, а в физиологически зрелом листе – *Ca*, *Mn*, *Sr*, *Ba*, *Cu*, *Pb*, *Al*, *Ti*, *Cr* и *Fe*.

Выявленные закономерности перераспределения минеральных компонентов в системе почва – физиологически зрелый лист – флешь могут быть полезны при классификации чая, произрастающего на небольших площадях со сходными почвенно-климатическими условиями.

Применение метода главных компонент с проекцией на латентные структуры (МГК-ПЛС) к массиву данных, включающему содержания металлов во взаимосвязанных образцах почвы и чая отобранных в I, III и IV микрзонах, позволило изучить различия в составе почв и чая. Проекция образцов на факторную плоскость показали, что почвы I, III и IV микрзоны отличаются по содержанию *Co*, *Ba*, *Mo*, *Ti*, *Na*, *Ni* и *Cu*, а образцы чая – *Ba*, *Na*, *Ni* и *Mg* (рисунок 5 (а) и (б)). Как видно, среди выделенных минеральных компонентов почв и чая есть три общих – *Ba*, *Na* и *Ni*. Отношение концентраций данных элементов в чае и почве сильно отличаются. Для *Ba*, например, отношение $C_{чай}/C_{почва}$ в I микрзоне составляет 0,04, в IV – 0,31, III – 0,10. И вероятно, содержания *Ba*, *Na* и *Ni* могут входить в перечень веществ-

маркеров для определения микрозоны произрастания краснодарского чая. Установление полного перечня характерных веществ-маркеров для определения микрозоны выращивания краснодарского чая требует дополнительных исследований с привлечением большего количества образцов.

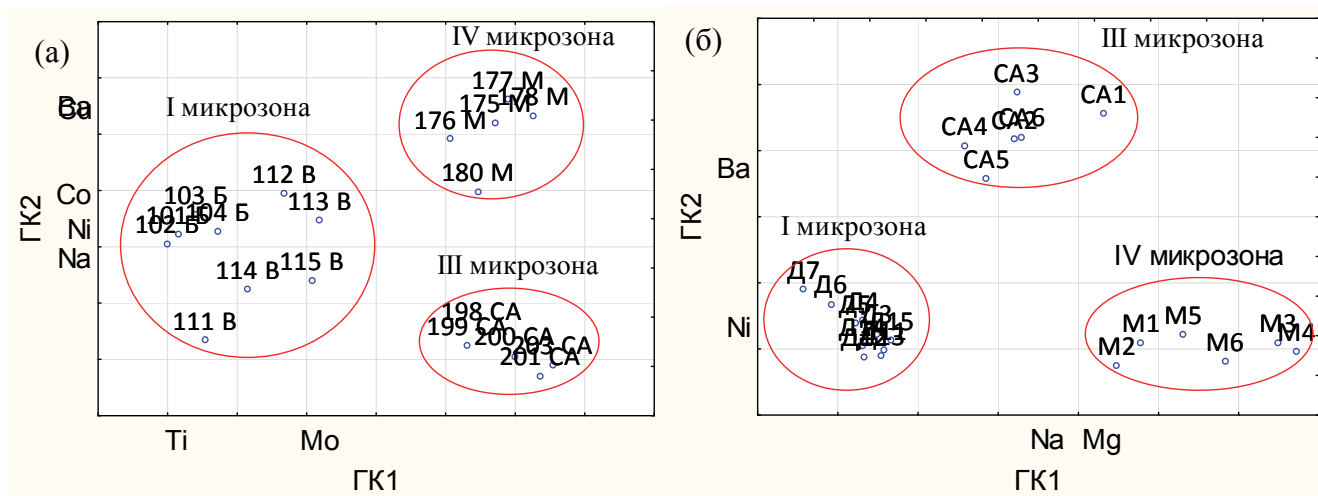


Рисунок 5 – Проекция на факторную плоскость образцов почвы (а) и чая (б) I, III и IV микрозон

Исследования взаимосвязи характеристик черного чая различного региона произрастания

При рассмотрении краснодарского черного чая, как вкусового продукта, необходимо выявить особенности его минерального и катехинового состава и на этой основе предложить подходы к классификации черного чая по региону произрастания. Объектами исследования при выполнении этой части работы служили оригинальные образцы черного чая с известным регионом произрастания.

При формировании массива данных группировку проводили в соответствии с регионом произрастания чая, а исследуемыми переменными являлись – содержания металлов (I), содержания кофеина, катехинов и галловой кислоты (II) и суммарный показатель – железовосстанавливающая способность (III).

Оценку обеспеченности чая микроэлементами проводили на основе известных обобщенных данных (по А. Кабата-Пендиас, 1989) установленных для многих видов растений. Показано, что во всех исследуемых группах чая можно отметить избыточное содержание *Mn*, что является характерным для этого растения-ацидофила, достаточную обеспеченность по *Cu*, *Ni*, *Cr* и *Co*, и дефицит *Mo*. В группе образцов цейлонского чая наблюдается дефицит *Zn*, при достаточном уровне обеспеченности этим элементом чая других 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 синергетическим, и его несбалансированные реакции могут служить причиной химических стрессов у растений. Рассмотрение взаимосвязи между макро- и микроэлементами в исследуемых образцах чая, позволили выявить тенденции к антагонистическим взаимодействиям *K* с *Mo* и *Mn*, а так же

Ca с Ni и Pb (таблица 5). Подобные антагонистические влияния для растения чая не являются общеизвестными и мало описаны в литературе.

Таблица 5 – Значения коэффициентов корреляции концентраций элементов в исследуемых образцах чая

Макро-элемент	Микро-элемент	Значения коэффициентов корреляции, r						
		Ассам-ский	Индий-ский	Кений-ский	Краснода-рский	Китай-ский	Цейлон-ский	Объединенный массив
К	Mo	-0,17	-0,37	-0,03	-0,79*	-0,27	-0,16	-0,33*
	Mn	-0,08	-0,04	-0,12	-0,97*	-0,68*	-0,70*	-0,22*
Ca	Ni	-0,65*	-0,13	-0,46*	-0,20	-0,46	-0,41*	-0,22*
	Pb	-0,57*	-0,10	-0,57*	-0,70*	-0,75*	-0,50*	-0,24*

* значимы при уровне статистической значимости 0,05

Сформирован массив данных, включающий содержания кофеина, катехинов и галловой кислоты в экстрактах чая различного региона произрастания, описательные характеристики которого представлены в таблице 6.

Таблица 6 – 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	Диапазон	Медиана	Диапазон	Медиана	Диапазон
ГКт	0,55	0,41-0,73	0,52	0,4-0,68	0,45	0,39-0,54
Кф	27	23-39	24	16-30	24	19-31
Кт	0,40	0,29-0,53	0,53	0,33-0,65	0,99	0,86-1,42
ЭГК	1,0	0,7-1,4	1,1	0,7-1,5	1,2	0,7-1,8
ЭПКГ	4,6	4,4-5,9	5,8	5,0-7,3	7,1	6,0-8,5
ЭКт	1,2	0,8-1,5	1,1	0,7-1,5	2,4	1,9-3,1
ГКГ	0,21	0,16-0,28	0,18	0,11-0,25	0,14	0,10-0,16
ГК	2,1	1,8-2,8	2,3	1,7-3,0	2,3	1,8-2,7
ЭКГ	4,5	3,8-5,2	4,6	4,0-5,8	5,2	4,5-6,0
Аналит	Китайский (N=9)		Цейлонский (N=39)		Краснодарский (N=23)	
	Медиана	Диапазон	Медиана	Диапазон	Медиана	Диапазон
	ГКт	3,3	2,7-5,9	0,52	0,31-0,68	0,47
Кф	15	14-19	26	19-48	31	23-39
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	1,2	0,7-1,9	1,6	1,2-1,9
ЭПКГ	1,5	1,4-1,6	8,4	6,4-10,6	3,8	3,4-4,4
ЭКт	1,0	0,9-1,3	1,6	1,1-2,3	0,9	0,7-1,2
ГКГ	0,04	0,03-0,04	0,20	0,08-0,26	0,15	0,12-0,21
ГК	1,5	1,3-1,8	2,4	1,5-3,6	3,2	2,5-3,9
ЭКГ	2,2	2,0-2,3	5,7	4,6-8,4	2,7	2,6-2,9

Сравнение содержаний минеральных и органических компонентов в чае различных регионов произрастания позволило выделить особенности состава краснодарского чая (рисунок 6).

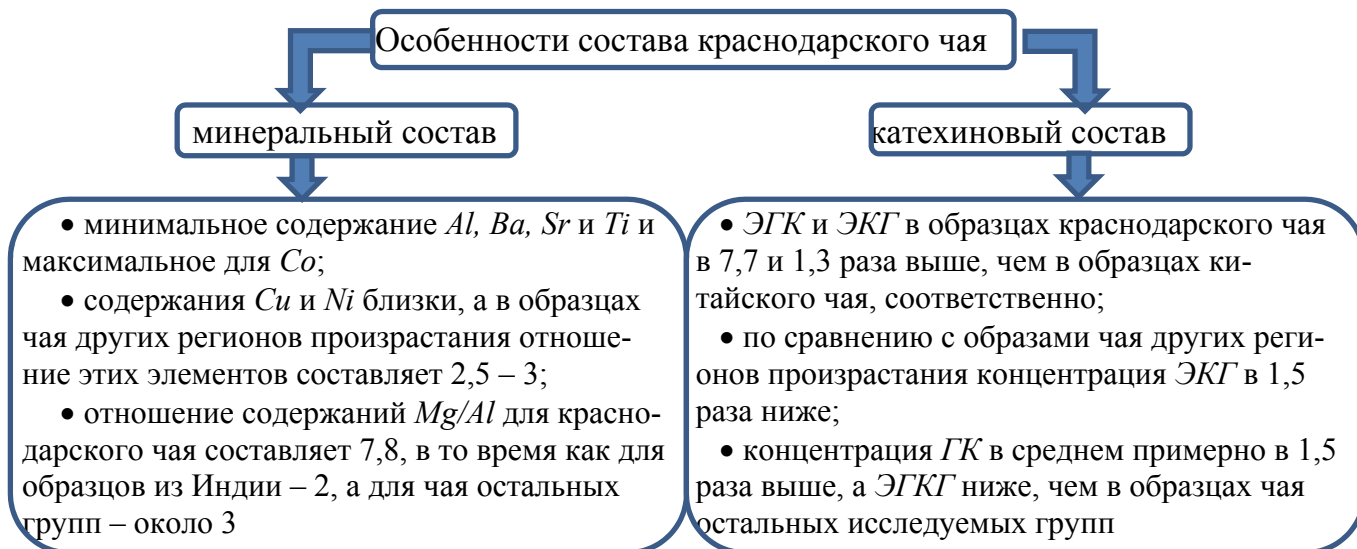


Рисунок 6 – Особенности состава краснодарского чая

Проведена оценка железовосстанавливающей способности образцов черного чая различных регионов произрастания (таблица 7). По величине *ЖВС* образцы чая располагаются в ряд (в порядке уменьшения) кенийский > цейлонский > индийский > ассамский > китайский > краснодарский. Показано, что величины *ЖВС*, имеют умеренную корреляционную связь по шкале Чеддока (рисунок 7) с суммарным содержанием катехинов и ГК ($r = 0,53$).

Таблица 7 – Результаты оценки *ЖВС* образцов черного чая

Показатель	ЖВС, мМ ГК/г					
	Ассамский (N 14)	Индийский (N 14)	Цейлонский (N 29)	Кенийский (N 15)	Краснодарский (N 16)	Китайский (N 9)
Среднее	0,33	0,29	0,33	0,28	0,26	0,34
Минимум	0,16	0,1	0,12	0,08	0,12	0,24
Максимум	0,49	0,53	0,49	0,46	0,44	0,5

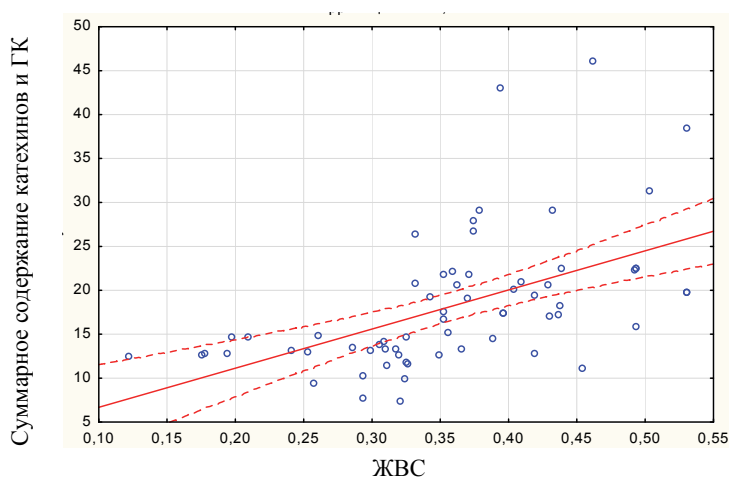
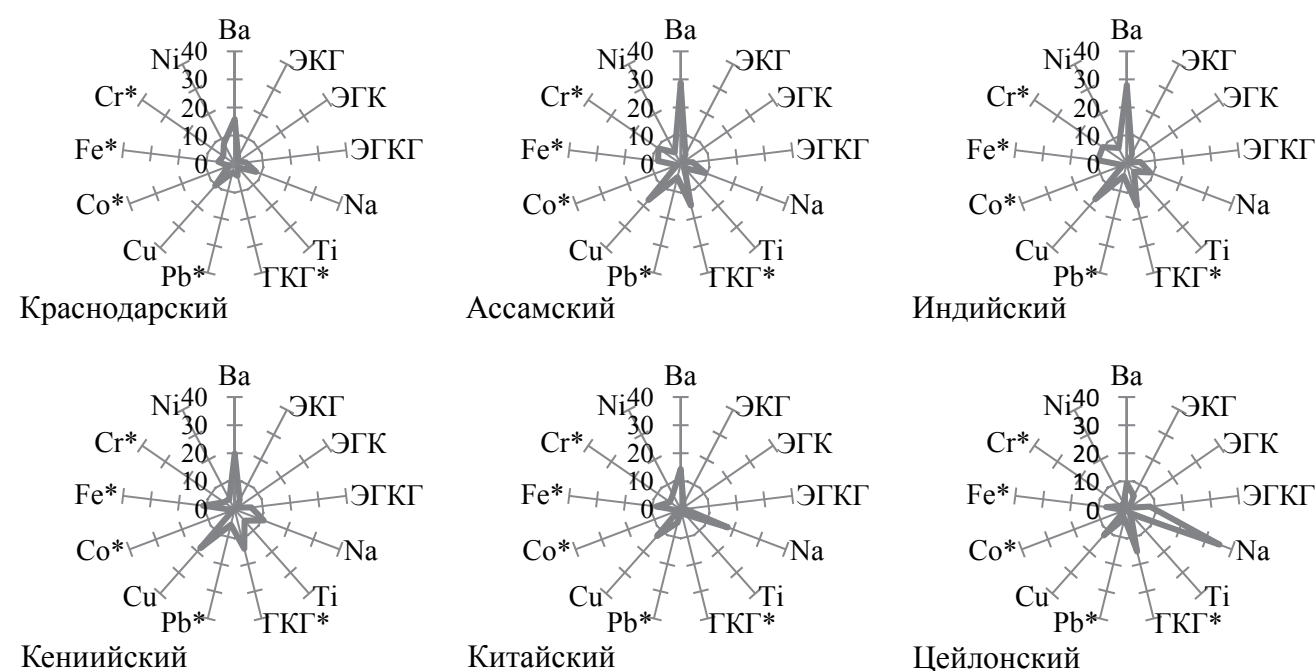


Рисунок 7 – Результаты корреляционного анализа величины *ЖВС* чая и суммарного содержания катехинов и ГК

Для краснодарского, кенийского и китайского чая установлена умеренная отрицательная корреляция показателя ЖВС с общепринятыми соотношениями 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 литературными данными.

Для визуализации установленных различий в минеральном и катехиновом составе чая различных регионов произрастания выделены компоненты минеральной и органической природы, содержания которых отличаются на $\pm 30\%$ и более от соответствующих величин для краснодарского чая. Причем это условие выполнялось не менее чем в трех из пяти исследуемых групп чая.

Лепестковые диаграммы, построенные по медианам концентраций компонентов, демонстрируют отличие визуального образа краснодарского черного чая от образцов цейлонского, китайского, кенийского, ассамского и индийского происхождения (рисунок 8).



*для масштабирования значения концентрации $ГКГ$, Pb , Cu , Co , Cr увеличены в десять раз, а Fe – уменьшены

Рисунок 8 – Лепестковые диаграммы, построенные на основе медиан содержаний компонентов в черном чае

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. В таблице 8 приведены примеры рассчитанных коэффициентов вариации в исследуемых группах чая и объединенном массиве.

Таблица 8 – Коэффициент вариации содержания металлов, органических компонентов и величины ЖВС в группах чая различного региона произрастания

Компонент	Регион произрастания						Объединенный массив
	Цейлон	Ассам	Индия	Кения	Краснодар	Китай	
Ca	13	9	17	18	26	23	31
Al	24	22	25	27	30	43	47
Mn	27	13	25	23	25	33	36
Fe	21	24	29	26	28	39	43
Ba	32	15	22	27	28	29	55
Na	34	22	26	28	29	29	84
Ni	27	24	34	29	31	26	46
Sr	18	17	23	22	33	29	84
Ti	21	23	25	27	30	30	61
Cr	17	20	24	27	34	29	63
Cd	30	25	28	32	34	34	53
Mo	27	18	18	28	35	35	39
N	24	14	15	16	26	20	115
ГКт	18	16	15	10	10	29	123
Кт	30	22	22	15	16	15	45
ГКГ	25	20	24	14	14	12	35
N	35	16	20	14	23	9	117
ЖВС	31,2	33,9	34,9	32,9	28,2	27,7	38,6
N	29	14	14	15	16	9	97

Подходы к установлению региональной принадлежности черного чая

Общий алгоритм (рисунок 9) 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.

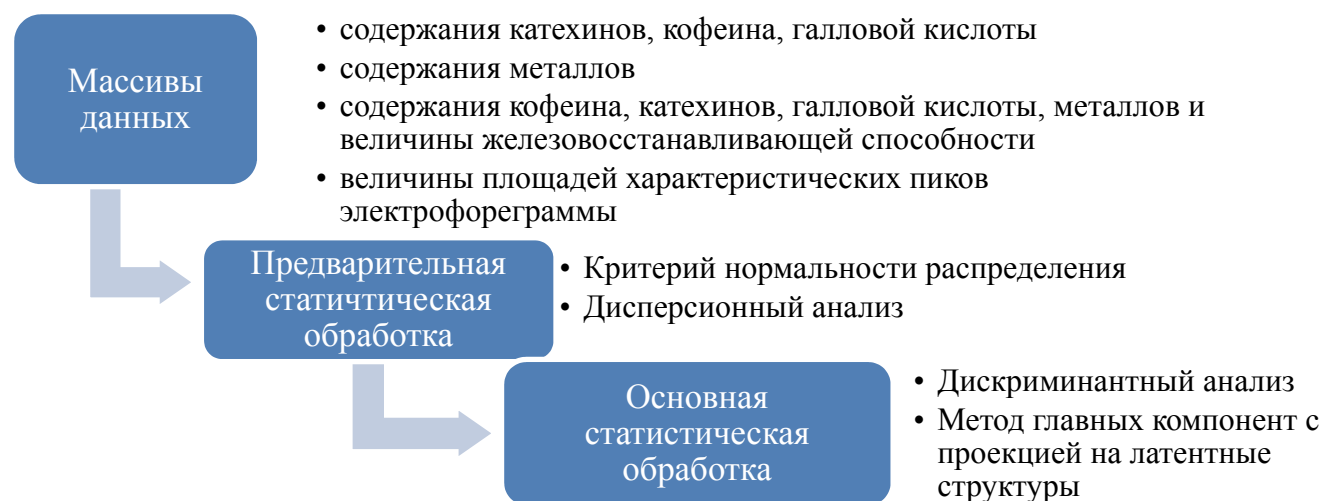


Рисунок 9 – Алгоритм обработки данных

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) *K, Ca, Mg, Al, Mn, Fe, Ba, Na, Zn, Cu, Ni, Sr, Ti, Cr, Pb, Co, Li, Cd, Mo* 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 ГКм, ГКГ, Км* и ЖВС.

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

Модель 1

$$\begin{aligned} \text{ФКА} &= 4,6 \text{ СГКт} + 1,1 \text{ СКф} + 2,8 \text{ СКт} - 1,2 \text{ СЭГК} + 3,2 \text{ СЭГКГ} + 7,2 \text{ СЭКт} + 150 \text{ СГКГ} - 4,1 \text{ СГК} + 2,9 \text{ СЭГК} - 49 \\ \text{ФКИ} &= 4,7 \text{ СГКт} + 0,7 \text{ СКф} + 15 \text{ СКт} - 2,9 \text{ СЭГК} + 5,1 \text{ СЭГКГ} + 2,2 \text{ СЭКт} + 102 \text{ СГКГ} - 2,3 \text{ СГК} + 3,3 \text{ СЭГК} - 44 \\ \text{ФКЦ} &= 4,0 \text{ СГКт} + 0,8 \text{ СКф} + 6,9 \text{ СКт} - 5,9 \text{ СЭГК} + 8,3 \text{ СЭГКГ} + 5,3 \text{ СЭКт} + 102 \text{ СГКГ} - 4,9 \text{ СГК} + 5,3 \text{ СЭГК} - 69 \\ \text{ФККр} &= 3,9 \text{ СГКт} + 1,0 \text{ СКф} + 16 \text{ СКт} + 13 \text{ СЭГК} + 0,8 \text{ СЭГКГ} + 4,1 \text{ СЭКт} + 90 \text{ СГКГ} + 6,8 \text{ СГК} - 5,1 \text{ СЭГК} - 47 \\ \text{ФККен} &= 2,8 \text{ СГКт} + 0,4 \text{ СКф} + 56 \text{ СКт} - 6,6 \text{ СЭГК} + 5,8 \text{ СЭГКГ} + 19 \text{ СЭКт} + 87 \text{ СГКГ} - 2,5 \text{ СГК} + 0,7 \text{ СЭГК} - 80 \\ \text{ФККит} &= 41 \text{ СГКт} + 0,6 \text{ СКф} + 7,2 \text{ СКт} - 7,7 \text{ СЭГК} - 1,1 \text{ СЭГКГ} + 5,5 \text{ СЭКт} + 3,5 \text{ СГКГ} + 2,9 \text{ СГК} + 2,5 \text{ СЭГК} - 93 \end{aligned}$$

Модель 2

$$\begin{aligned} \text{ФКА} &= 0,007 \text{ СAl} + 0,02 \text{ СMn} - 0,12 \text{ СFe} + 1,2 \text{ СBa} + 0,12 \text{ СNa} + 2,7 \text{ СTi} + 24,3 \text{ СCr} + 32 \text{ СPb} + 48 \text{ CLi} - 52 \\ \text{ФКИ} &= 0,02 \text{ СAl} + 0,014 \text{ СMn} - 0,12 \text{ СFe} + 1,01 \text{ СBa} + 0,08 \text{ СNa} + 5,1 \text{ СTi} + 25,3 \text{ СCr} + 27 \text{ СPb} + 60 \text{ CLi} - 58 \\ \text{ФККен} &= 0,004 \text{ СAl} + 0,03 \text{ СMn} - 0,03 \text{ СFe} + 1,1 \text{ СBa} + 0,12 \text{ СNa} + 8,5 \text{ СTi} - 15,5 \text{ СCr} + 48 \text{ СPb} + 42 \text{ CLi} - 66 \\ \text{ФККр} &= - 0,007 \text{ СAl} + 0,03 \text{ СMn} - 0,01 \text{ СFe} + 0,07 \text{ СBa} + 0,26 \text{ СNa} + 0,72 \text{ СTi} - 0,83 \text{ СCr} + 18,8 \text{ СPb} + 85 \text{ CLi} - 19 \\ \text{ФККит} &= 0,008 \text{ СAl} + 0,017 \text{ СMn} + 0,0006 \text{ СFe} + 0,33 \text{ СBa} + 0,23 \text{ СNa} + 3,7 \text{ СTi} + 4,4 \text{ СCr} + 28,4 \text{ СPb} + 80 \text{ CLi} - 31 \\ \text{ФКЦ} &= - 0,013 \text{ СAl} + 0,01 \text{ СMn} + 0,02 \text{ СFe} + 0,18 \text{ СBa} + 0,78 \text{ СNa} + 2,83 \text{ СTi} - 9,15 \text{ СCr} + 22,1 \text{ СPb} + 60 \text{ CLi} - 34 \end{aligned}$$

Модель 3

$$\begin{aligned} \text{ФКА} &= 70 \text{ ЖВС}_{60} + 24 \text{ СГКт} - 31 \text{ СКт} + 14,5 \text{ СГКГ} + 0,015 \text{ СCa} + 0,074 \text{ СMg} + 0,018 \text{ СMn} + 0,018 \text{ СBa} - 1,2 \\ &\text{СNi} + 4,2 \text{ CSr} - 0,9 \text{ СTi} + 20,1 \text{ СCr} - 80 \text{ CLi} + 157 \text{ CV} + 164 \text{ СMo} + 608 \text{ СCd} - 158 \\ \text{ФКИ} &= 65 \text{ ЖВС}_{60} + 25 \text{ СГКт} - 23 \text{ СКт} + 12,5 \text{ СГКГ} + 0,019 \text{ СCa} + 0,067 \text{ СMg} + 0,013 \text{ СMn} - 1,4 \text{ СBa} - 4,7 \text{ СNi} + \\ &0,2 \text{ CSr} + 2,1 \text{ СTi} + 14 \text{ СCr} - 72 \text{ CLi} + 276 \text{ CV} + 85 \text{ СMo} + 529 \text{ СCd} - 165 \\ \text{ФККен} &= 44 \text{ ЖВС}_{60} + 30 \text{ СГКт} - 14 \text{ СКт} + 8,4 \text{ СГКГ} + 0,006 \text{ СCa} + 0,074 \text{ СMg} + 0,028 \text{ СMn} - 0,5 \text{ СBa} + 1,7 \text{ СNi} \\ &+ 2,6 \text{ CSr} + 4,7 \text{ СTi} + 11 \text{ СCr} - 294 \text{ CLi} + 319 \text{ CV} + 575 \text{ СMo} + 384 \text{ СCd} - 232 \\ \text{ФККр} &= 52 \text{ ЖВС}_{60} + \text{СГКт} - 33 \text{ СКт} - 0,5 \text{ СГКГ} + 0,017 \text{ СCa} + 0,075 \text{ СMg} + 0,037 \text{ СMn} - 1,6 \text{ СBa} + 7,0 \text{ СNi} + \\ &+ 0,5 \text{ CSr} - 5,1 \text{ СTi} - 3,6 \text{ СCr} + 7,9 \text{ CLi} + 86 \text{ CV} + 223 \text{ СMo} + 1096 \text{ СCd} - 168 \\ \text{ФККит} &= 75 \text{ ЖВС}_{60} + 68 \text{ СГКт} - 51 \text{ СКт} - 9,3 \text{ СГКГ} + 0,021 \text{ СCa} + 0,1 \text{ СMg} + 0,007 \text{ СMn} - 1,7 \text{ СBa} + 3,6 \text{ СNi} + \\ &+ 0,34 \text{ CSr} + 2,6 \text{ СTi} + 24,4 \text{ СCr} - 258 \text{ CLi} + 313 \text{ CV} + 247 \text{ СMo} + 1095 \text{ СCd} - 305 \\ \text{ФКЦ} &= 81 \text{ ЖВС}_{60} + 21 \text{ СГКт} - 13 \text{ СКт} + 22,7 \text{ СГКГ} + 0,019 \text{ СCa} + 0,06 \text{ СMg} + 0,004 \text{ СMn} - 2,1 \text{ СBa} + 3,5 \text{ СNi} + \\ &+ 0,086 \text{ CSr} + 3,4 \text{ СTi} - 2,9 \text{ СCr} - 5,2 \text{ CLi} + 176 \text{ CV} + 44 \text{ СMo} + 261 \text{ СCd} - 135 \end{aligned}$$

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 10а). В модели на основе минерального состава все группы имеют близкую локализацию с перекрытием областей (рисунок 10б). 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 10в). Общий процент правильной классификации для модели 1 составил 92,3%, модели 2 – 96,5%, модели 3 – 98,9% (таблица 9)

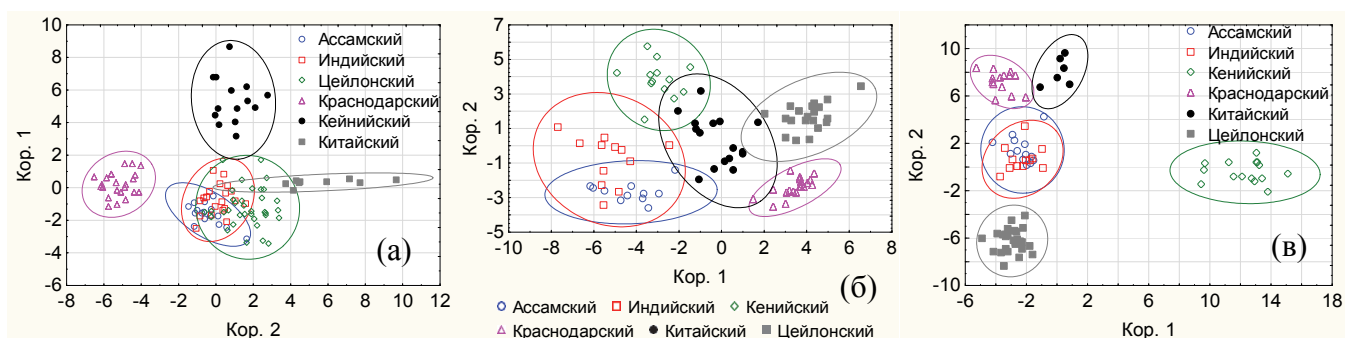


Рисунок 10 – Диаграмма рассеяния канонических значений для групп чая различного региона произрастания модель 1 (а), модель 2 (б), модель 3 (в)

Таблица 9 – Результаты проверки правильности полученных 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	77,3	93,9	100	100	100	92,3
	N	16	22	33	23	14	9	117
2	Верно	13	13	24	26	16	19	11
	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	15
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	87

Классификация черного чая по региональной принадлежности на основе электрофоретического профиля

Идентифицировать полный состав флавонолов и алкалоидов чая методами ВЭЖХ и МЭЖХ 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. Выделены девять характеристических пиков, и для нивелирования влияния разброса значений площадей (S) характеристических пиков проведено их соотношение друг к другу. Получен массив данных, включающий в себя 36 соотношений площадей характеристических пиков.

Применение МГК-ПЛС к полученному массиву позволило установить, что наибольшее влияние на отнесение образца к группе чая соответствующего региона произрастания оказывают соотношения: $S_{ГКм}/S_{Км}$, $S_{Км}/S_{ГКГ}$, $S_{Км}/S_{ЭКГ}$, $S_{ЭКм}/S_{ГКГ}$, $S_{ГКГ}/S_{ЭКГ}$.

На основе выбранных соотношений, построена модель классификации черного чая по региону произрастания. Проверка значимости главных компонент по критерию Кайзера выявила, что значимыми являются первые четыре главные компоненты, остальные содержали не более двадцати процентов общей дисперсии и отброшены как статистический шум. Проекция образцов чая на первые две компоненты показала, что исследуемые образцы сформировали в пространстве факторных координат четыре неперекрывающиеся области китайского, кенийского, краснодарского региона произрастания, а образцы индийского, ассамского и цейлонского чая образовали единую группу (рисунок 11а). Рассмотрение проекции на третью и четвертую главные компоненты позволило классифицировать все исследуемые группы (рисунок 11б).

Проверку полученной модели проводили на образцах чая, не использованных при ее построении (N=15), все проверочные образцы отнесены в соответствующие им области факторного пространства, за исключением одного образца ассамского чая, включенного в группу индийского. Таким образом, показана возможность классификации черного чая по региональной принадлежности на основе соотношений площадей характеристических пиков электрофореграмм.

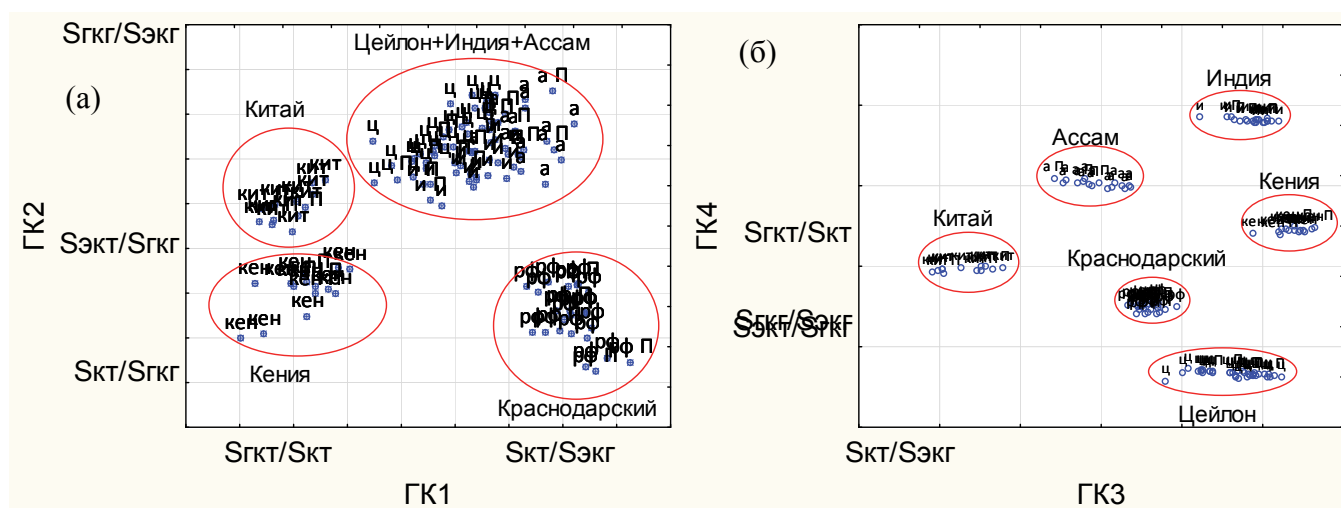


Рисунок 11 – Проекция образцов на факторную плоскость (а) 1 и 2 ГК, (б) на 3 и 4 ГК

Вызывает практический интерес экспрессный скрининг-анализ, позволяющий определить регион произрастания чая. Такую возможность изучили для групп чая краснодарского, кенийского и китайского регионов произрастания. Эти группы имеют хорошую локализацию в проекции на первые две главные компоненты, описывающие максимальную дисперсию в данных. Исходный массив отношений характеристических пиков образцов цейлонского, китайского, ассамского, индийского, кенийского и краснодарского чая проанализировали и выделили 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 ($S_{Kф}/S_{Kт}$, $S_{Kф}/S_{ЭKт}$, $S_{ЭKГ}/S_{ЭKГ}$, $S_{ГKт}/S_{Kт}$, $S_{ГKт}/S_{ЭKГ}$, $S_{Kт}/S_{ГKГ}$, $S_{Kф}/S_{ГK}$, $S_{ЭKГ}/S_{ЭKГ}$, $S_{ГK}/S_{ЭKГ}$) и последующее соотнесение полученных значений с их выделенными диапазонами для китайского, кенийского и краснодарского чая (рисунок 12).

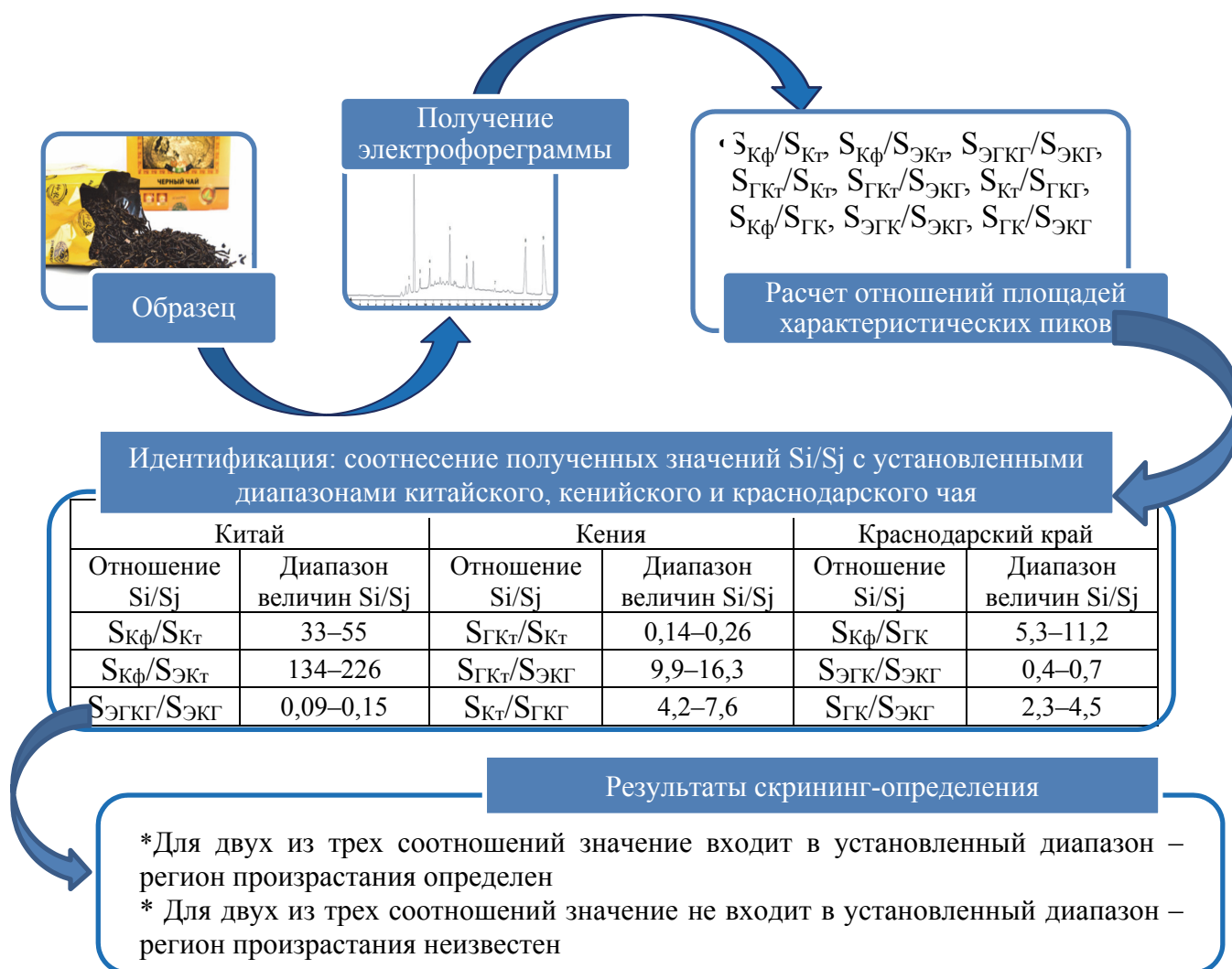


Рисунок 12 – Алгоритм скрининг-анализа установления региона произрастания чая на основе электрофоретического профиля экстракта чая

Проверку правильности предложенного алгоритма проводили на 25 образцах чая ассамского, цейлонского, кенийского, китайского, индийского и краснодарского региона произрастания. Правильность рассчитывали исходя из отнесения образцов к соответствующему региону произрастания и несоответствия полученных значений для установленных диапазонов образцов других исследуемых регионов произрастания. Процент правильности отнесения образца к соответствующей группе для китайского чая составил 100%, кенийского – 88%, а для краснодарского 97% (таблица 10).

Предложенный алгоритм апробировали на образцах черного чая "Мао Фен", "Сокровища Кении", "Сталинский" и "Солнечный лев", приобретенных в специализированной торговой сети (таблица 11). Для вышеуказанных образцов получили значения площадей характеристических пиков электрофореграммы, рассчитали отношения $S_{Kф}/S_{Kт}$, $S_{Kф}/S_{ЭКт}$, $S_{ЭГКГ}/S_{ЭКГ}$, $S_{ГКм}/S_{Kт}$, $S_{ГКм}/S_{ЭКГ}$, $S_{Kт}/S_{ГКГ}$, $S_{Kф}/S_{ГК}$, $S_{ЭГК}/S_{ЭКГ}$, $S_{ГК}/S_{ЭКГ}$ и соотнесли с диапазонами, установленными для китайского, кенийского и краснодарского чая. Установили следующие регионы произрастания: "Мао Фен" – Китай, "Сокровища Кении" – Кения, "Сталинский" – Краснодарский край. Эти результаты совпали с

информацией, предоставленной изготовителем. Для образца "Солнечный лев" регион произрастания остается неизвестен, так как рассчитанные значения отношений не соответствуют требованиям алгоритма. Производителем этот чай заявлен как цейлонский.

Таблица 10 – Результаты проверки правильности предложенного алгоритма

Регион	Отношение S_i/S_j	Верно	Неверно	Правильность, %	
Китай	$S_{Кф}/S_{Кт}$	25	0	100	100
	$S_{Кф}/S_{ЭКт}$	25	0	100	
	$S_{ЭКГ}/S_{ЭКГ}$	25	0	100	
Кения	$S_{ГКт}/S_{Кт}$	24	1 Ц	92	88
	$S_{ГКт}/S_{ЭКГ}$	22	3 Кен	88	
	$S_{Кт}/S_{ГКГ}$	21	2 Кен; 2 Кит	84	
Краснодарский край	$S_{Кф}/S_{ГК}$	25	0	100	97
	$S_{ЭКГ}/S_{ЭКГ}$	23	2 Кр	92	
	$S_{ГК}/S_{ЭКГ}$	25	0	100	

Таблица 11 – Результаты скрининг-анализа региона произрастания образцов чая

Регион	Отношение	Диапазон	"Мао Фен"		"Сокровища Кении"		"Сталинский"		"Солнечный лев"	
Китай	$S_{Кф}/S_{Кт}$	33-55	51	+	17	-	48	+	38	+
	$S_{Кф}/S_{ЭКт}$	134-226	6	-	4	-	12	-	8	-
	$S_{ЭКГ}/S_{ЭКГ}$	0,09-0,15	0,11	+	0,52	-	0,68	-	0,44	-
Кения	$S_{ГКт}/S_{Кт}$	0,14-0,26	0,32	-	0,25	+	0,35	-	0,54	-
	$S_{ГКт}/S_{ЭКГ}$	9,9-16,3	0,02	-	0,03	-	0,08	-	0,02	-
	$S_{Кт}/S_{ГКГ}$	4,2-7,6	3,9	-	3,7	+	1,9	-	1,4	-
Краснодарский край	$S_{Кф}/S_{ГК}$	5,3-11,2	3,4	-	2,6	-	3,6	+	2,9	-
	$S_{ЭКГ}/S_{ЭКГ}$	0,4-0,7	0,06	-	0,1	-	0,6	+	0,08	-
	$S_{ГК}/S_{ЭКГ}$	2,3-4,5	1,0	-	0,7	-	3,1	+	0,5	-
Заключение			Китай		Кения		Краснодарский край		Регион неизвестен	

Полученные результаты указывают на возможность установления региона произрастания черного чая по отношениям площадей характеристических пиков электрофореграммы экстракта чая.

ВЫВОДЫ

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 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 *K*, *Ca*, *Mn* и *Sr* во флешах и физиологически зрелом листе. Для флеша было характерно накопление *K*, *Zn*, *Mg*, *Co*, *Ni* и *Mo* в сравнении со зрелым листом, со старением чайного листа увеличивалось содержание *Ca*, *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*, *GKm*, *GKG*, *Km* 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_{GKm}/S_{Km} , S_{Km}/S_{GKG} , $S_{Km}/S_{ЭКГ}$, $S_{ЭКМ}/S_{GKG}$, $S_{GKG}/S_{ЭКГ}$).

Разработан алгоритм скрининг-определения региональной принадлежности краснодарского, кенийского и китайского черного чая, установлены характеристические отношения площадей пиков электрофореграммы и их диапазоны: $S_{Kф}/S_{Km}$, $S_{Kф}/S_{ЭКМ}$, $S_{ЭГКГ}/S_{ЭКГ}$ – для китайского, S_{GKm}/S_{Km} , $S_{GKm}/S_{ЭКГ}$, S_{Km}/S_{GKG} – кенийского, $S_{Kф}/S_{GK}$, $S_{ЭГК}/S_{ЭКГ}$, $S_{GK}/S_{ЭКГ}$ – краснодарского чая.

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

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1 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

2 **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

3 **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 // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2021. – Т.87. – №9. – С.12-19

4 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

5 Малюкова, Л.С. Содержание тяжёлых металлов в 3-листной флеша 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

6 Гром, Е.А. Спектрофотометрическая оценка антиоксидантной активности растительных материалов на основе свойств их компонентного состава // Гром Е.А., **Гуцаева К.С.**, Ачмиз Б.А., Цюпко Т.Г. // Материалы второй всероссийской конференции по аналитической спектроскопии с международным участием. Краснодар. 2015г. – С. 176.

7 Гурова, А.А. Суммарное содержание полифенольных соединений как показатель качества черного чая / Гурова А.А., Гурова Н.А., **Гуцаева К.С.** Чувыврова А.Е., Цюпко Т.Г., Воронова О.Б. // Сборник статей Пятой республиканской конференции по аналитической химии с международным участием. Минск. 2017г. – С. 186-187.

8 **Гуцаева, К.С.** Классификация черного чая по происхождению на основе электрофоретического профиля экстрактов / **Гуцаева К.С.**, Цюпко Т.Г., Воронова О.Б. // Материалы третьей всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». Краснодар. 2015г. – С. 115.

9 Малюкова, Л.С. Состав и содержание флавоноидов в готовом чае, выращенном в условиях черноморского побережья Краснодарского края / Малюкова Л.С, Цюпко Т.Г., Притула З.В., Воронова О.Б., **Гуцаева К.С.**, Великий А.В.// Сборник научных статей по материалам X международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. Москва. 2018г. – С. 272-277.

10 Воронова, О.Б. Классификация черного чая по происхождению на основе его мультикомпонентного минерального состава / Воронова О.Б., **Гуцаева К.С.** Цюпко Т.Г., Минко Д.А. // Сборник статей Шестой республиканской конференции по аналитической химии с международным участием. Минск. 2018 г. – С. 208

11 **Гуцаева, К.С.** Использование электрофоретического профиля черного чая для его дискриминации по географическому происхождению / **К.С. Гуцаева**, Т.Г. Цюпко Т.Г., Воронова О.Б. // Материалы пятого всероссийского симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии Краснодар. 2018г. – С. 222.

12 Тищенко, Е.А, LVSS-K3Э-УФ определение теofilлина в чае / Тищенко Е.А, Цюпко Т.Г., Коробко М.М., Махницкая И.Э. **Гуцаева К.С.** // Материалы четвертой всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». Краснодар. 2020г. – С. 129.

Автор выражает глубокую благодарность д.б.н Малюковой Л. С., а так же к.х.н. О.Б. Вороновой и к.х.н. Е.Ф. Галаю за оказанную помощь и внимание к настоящей работе.

ГУЩАЕВА КРИСТИНА СЕРГЕЕВНА

**Установление региона произрастания черного чая на основе
его компонентного состава**

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Подписано в печать 15.03.2023 г.

Формат 60×84 ¹/₁₆. Бумага офсетная. Печать цифровая.

Уч.-изд. л. 1,5. Тираж 100 экз. Заказ № 5167.2

Издательско-полиграфический центр

Кубанского государственного университета

350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149.