臺灣二 OO 四年國際科學展覽會

科　　別：醫學與健康科學科

作品名稱：探討茶液成分受光及貯存時間之影響

得獎獎項：醫學與健康科學科佳作

學　　校：國立大里高級中學

作　　者：李佳熹

作 者 簡 介

小時候我是一個害羞安靜的孩子，雖然很喜歡觀察所有新奇的事物，卻不敢開口問問題。從小由於爸媽工作很忙，致我幾乎在外婆家成長，外婆是個很愛種花蒔草的人，也養了很多動物，因此豐富了我的童年，除了整天跟著家裡的大土狗跑之外，還曾經捉弄走路會內八的鵝夫妻，有一次還不小心被鱉咬一口呢！這些和動物相處的經驗，讓我看到動物都有一種特別的親切感，也養成喜歡觀察研究的特質。

可能是因爲爸媽都很愛看書跟買書吧，我也在耳濡目染之下，愛上了閱讀，其中歷史和傳記是我國小時睡前的故事書，外國的翻譯小說也是我的最愛。小王子讓我在國中時期，就立定以「保持不變的赤子之心」爲人生態度。另外我也很喜歡運動，從籃球、羽球、桌球、游泳、排球至直排輪，無不一一用心學習，例如桌球，爲了練旋轉球，不惜砸下大筆的放學時間練習。

我也喜歡當自利利人的志工，目前擔任就讀學校圖書館的志工，由工作學到很多以前不知道的事物。例如圖書的分類、如何查書還有當我讀架的時候，還可以了解有哪些自己不知道的好藏書哩!

對未來，其實沒有太多要求，只要我自己每天能保持快樂的想法，積極的過日子就好。還有啊！人生不用太順利，因爲人生只有這麼一次，如果都順順利利的就沒什麼好體驗的啦！

Abstract

Tea is the most widely accepted and consumed beverage worldwide due to its characteristic aroma and taste. Recent studies have provided the strong scientific basis for understanding the health promoting effects and cancer preventive actions of tea. The components of tea especial the catechins are varied with the conditions of making tea. To understand and determine the chemical composition of tea is very important.

Some investigations of the parameters on the storage and making of tea were carried on in this study. The kinds of tea studied were including black tea, oolong tea, green tea, and instant tea bags. A high performance liquid chromatograph combined with UV detector and mass spectrometer used to analyze the components of tea. The results showed that the composition of tea solution is dependant of the exposure of light. One of the components of tea, (-)-epicatechin methylgallate (ECMG) was oxidized to quino form. The concentrations of (-)-catechin gallate (ECG) decreased and one of new compound (M.W. 442) produced with increasing the storage time. From the results show tea made with cold water is better than that made with hot water. The ingredients in green tea were changed faster than those in fermentative black tea and oolong tea. The components of tea can be kept unchanged for a long time at low temperature. In refrigerator, the time can be extended to overnight.

摘要

茶由於其具有特殊的芳香氣味及口味，廣泛地被世人用為飲料，近年來的研究證據顯示茶具有促進身體健康和防癌功效，但茶中成分之變化，尤其兒茶素隨茶的種類、茶沖泡保存方式及置放時間而有所不同，因此對於茶中成分及沖泡方式的認知是一門重要的課題。

本實驗主要是探討茶沖泡時間及貯存條件，對於茶液所含兒茶素變化的影響，探討的茶包含紅茶、烏龍茶、綠茶及其茶包。並使用質譜儀及高效能液相層析質譜儀配備紫外光偵測器分析茶液中之成分，實驗結果顯示成分變化速率以未發酵的綠茶較發酵的紅茶和烏龍茶快；低溫儲存時，亦可延緩茶液成分的變化，例如加蓋並存放於冰箱，則茶置放至隔夜其成分均未改變；同時結果顯示成分產生變化者，主要為兒茶素氧化，如將多酚類氫氧基經氧化變成醌（quino），其次為斷裂再產生聚合其中綠茶以不照光變化較大。本研究並經實驗發現如果以冷開水沖泡綠茶 20~30 分鐘，咖啡因的溶出量雖略多於沖泡 2 分鐘的熱茶，但各種兒茶素的溶出量卻遠高之，尤其置放至隔夜茶液成分仍無氧化現象。

一、前言

(一) 研究動機

隔夜茶真的不適合飲用嗎? 而罐裝的紅茶、烏龍茶、綠茶等各種瓶或盒裝茶又爲何能喝呢? 這些問題一直是大家心中的疑惑，尤其紅茶爲全發酵茶、烏龍茶爲半發酵茶、綠茶爲未發酵茶，而歐美人偏好紅茶、日本人偏好綠茶、中國人則偏好烏龍茶。因此想探討比較三類茶貯存方式及條件不同時對其溶出成分兒茶素的影響，以免飲用者長期誤飲對健康造成不良的影響。另外也因最近仿間流行喝標榜健康的冷茶，本實驗乃同時探討之，期盼藉由研究結果，具體提供沖泡及保鮮茶液的正確方法，好讓大家喝得安全又健康。

(二) 研究目的

1.探討比較茶葉經熱開水沖泡後，不同的保存方法及時間對其滲出成分的影響。
2.探討比較不同茶葉於一項變因中，溶出成分的異同。
3.探討光與保存溫度對茶液成分兒茶素質變的影響。
4.探討保鮮茶液的方法。
5.探討如何沖泡及保存優質的冷茶。

二、研究過程

(一)準備紅茶、烏龍茶、綠茶半斤裝各兩包及三種茶包各一盒。
(二)1.秤取 2.00g 紅茶，置於茶壺中，再以 100mL 沸開水沖泡 1、2、3、4min 後倒出茶，加蓋冷卻後吸出 1.0mL 再通過過濾圈套(Syringe Filter 0.20 μm) 過濾之，並以 HPLC 分析之。所用 HPLC 爲 Spectra Series P100 型, 偵測器爲 Spectra Series UV150,分析管柱爲 SupelcoLC-18(25cm x 4.6 mm) 。
2.將 1 項（沖泡 2min）剩餘的茶置於兩個樣品瓶，一半加蓋，一半不加蓋，置放 10min 後，再各吸出 1.0mL 通過過濾圈套過濾，並以 HPLC 分析之。
3.操作同 2，但置放時間爲 1hr、2hr、3hr、4hr、隔夜 10 小時（變因爲是否加蓋及照光 4 組）。
(三)將茶改以烏龍茶及綠茶代之，重複操作(二)1~3。
(四)重複(二)、(三)之操作，但茶葉一直浸泡於茶中。
(五)重複同(二)1 之泡茶方式沖泡三種茶，並將加蓋及不加蓋，浸泡茶葉及不浸茶葉 4 組共 12 杯茶分別置放於冰箱中冷藏，並於 1 天、2 天、3 天及 4 天後分別取樣過濾，再以 HPLC 分析之(探討低溫冷藏條件下,時間對茶液的影響)。

(六)分別以立頓紅茶包、烏龍茶包及綠茶包重複操作(二)1~3 及(三)、(四)、(五)。

(七)以高效能液相層析儀，分析茶水成分，動相流速爲 1mL/min，以沖提梯度方式分析，所用動相(A)爲乙晴與水(49.5:49.5)+1%甲酸，(B)乙晴與水(94.5:4.5)+1%甲酸。其沖提動相組成爲 10% (A)與 90% (B)沖提 10 分鐘，再以 30% (A)與 70% (B)沖提 5 分鐘，整個分析時間爲 18 分鐘。

(八)以 UV 偵測時，波長定於 280nm。使用質譜儀爲 1200L 與 LCQ (Finnigan MAT)使用的游離法爲 APCI 與 ESI

(九)1.分別將沖泡好之三種茶，即刻以 HPLC/UV/MS 分析之。

2.三種茶白天置放八小時(分照光及不照光)後，再分析之。

3.三種茶置放隔夜八小時(分照光及不照光)後，再分析之。

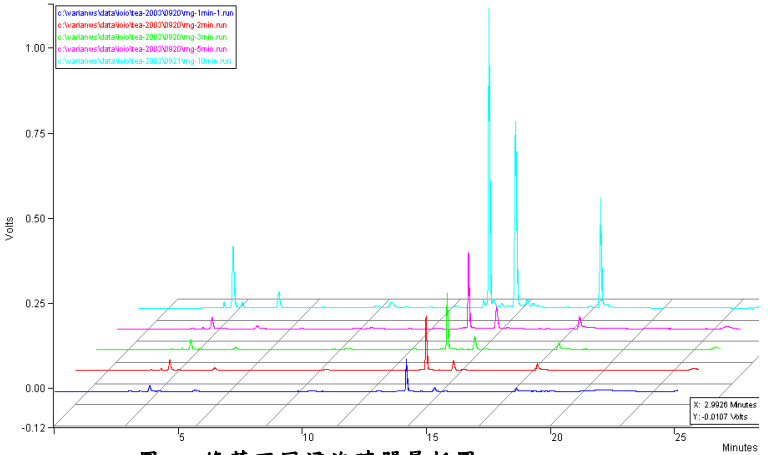
(十)步驟同十，但分析儀器改以質譜儀代之，使用質譜儀大氣壓化學游離法時，電壓爲 3kV，毛細管溫度爲 200℃，質量掃描範爲 m/Z 100~1000。

(十一)泡好之綠茶分別加 0.2mL 檸檬汁/100mL 茶，再如同部驟十、十一分析之。

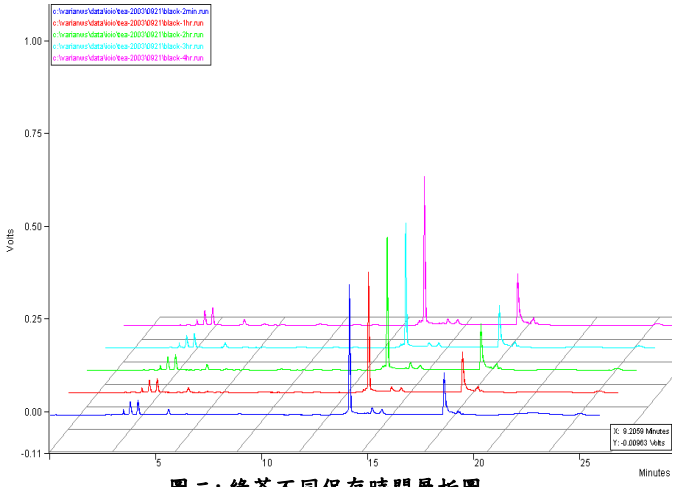
(十二)以冷開水分別沖泡綠茶 2min、30min、45min、60min、90min 後再取樣分析之，並將沖泡 30min 之樣品置放至隔夜再分析之。

三、研究結果與討論

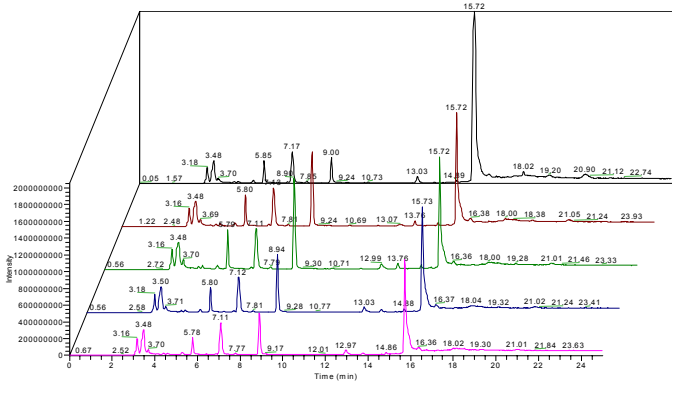
(一)結果



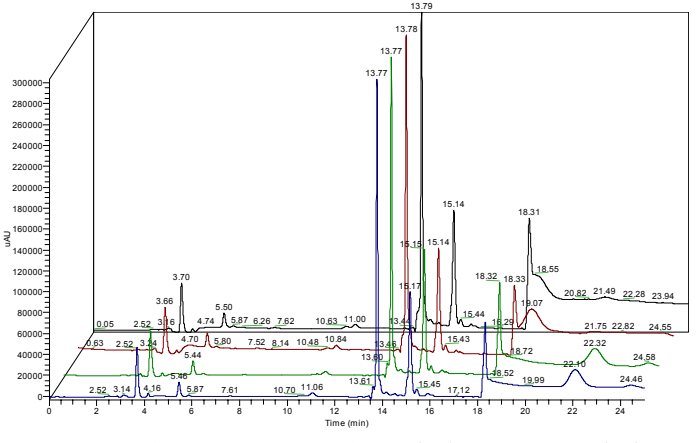
圖一：綠茶不同浸泡時間層析圖



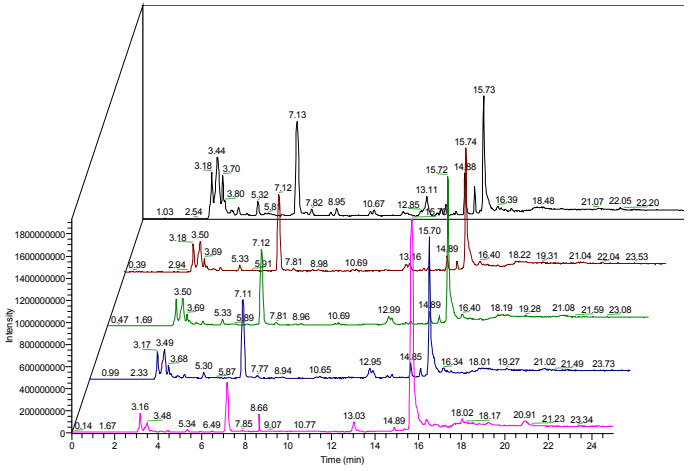
圖二：綠茶不同保存時間層析圖



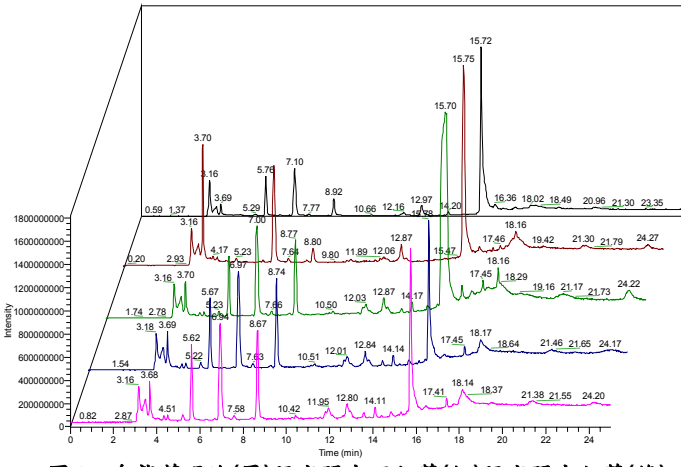
圖三：綠茶現泡(黑)隔夜照光不加蓋(紅)隔夜照光加蓋(綠)
隔夜不照光不加蓋(藍)隔夜不照光加蓋(紫)



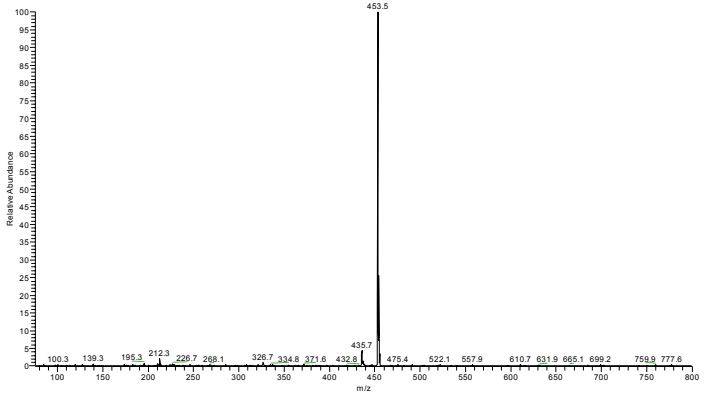
圖四：綠茶之HPLC層析圖綠茶現泡(黑),現泡加檸檬(紅),
綠茶隔夜(綠),加檸檬隔夜(藍)



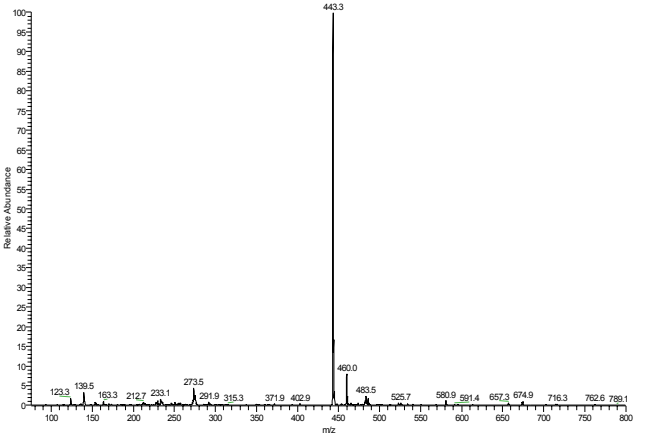
圖五: 紅茶現泡(黑)隔夜照光不加蓋(紅)隔夜照光加蓋(綠)
隔夜不照光不加蓋(藍)隔夜不照光加蓋(紫)



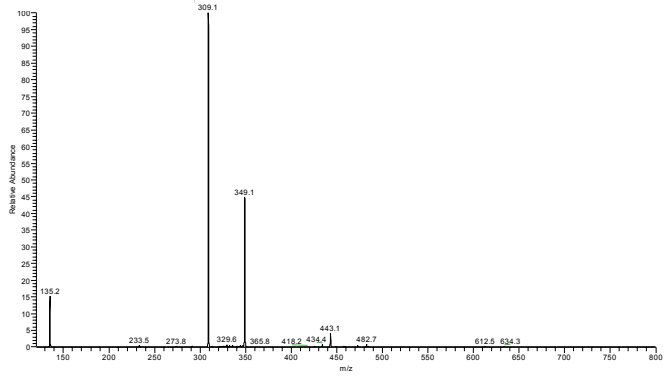
圖六: 烏龍茶現泡(黑)隔夜照光不加蓋(紅)隔夜照光加蓋(綠)
隔夜不照光不加蓋(藍)隔夜不照光加蓋(紫)



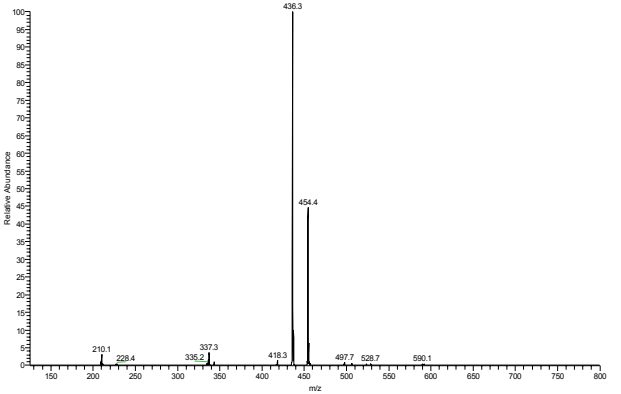
圖七: LC/MS分析於滯留時間13.00分鐘波峰之質譜圖



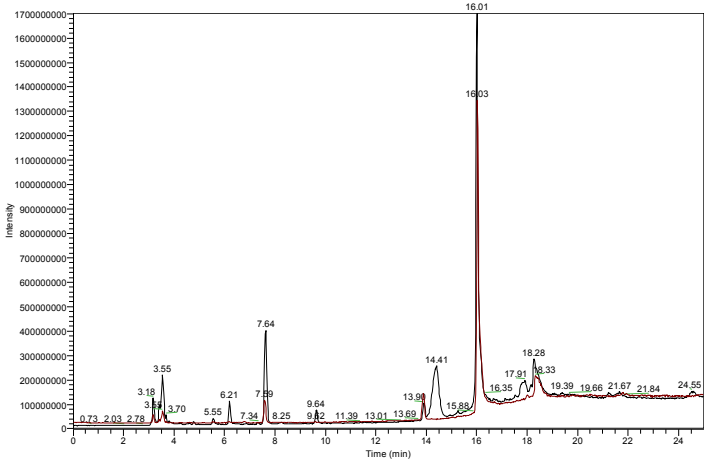
圖八: LC/MS分析於滯留時間13.90分鐘波峰之質譜圖



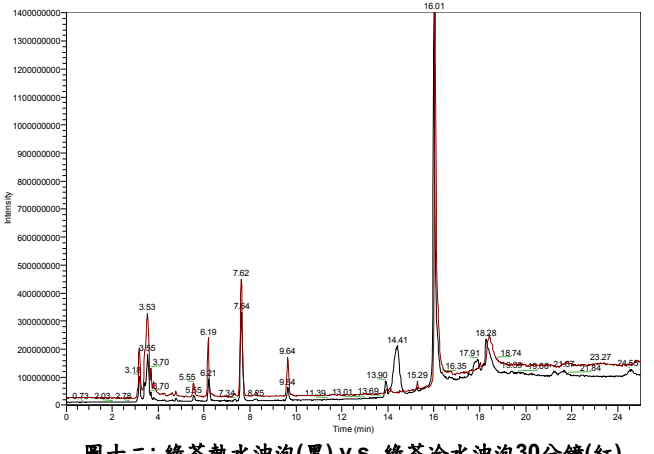
圖九: 分析於滯留時間13.90分鐘波峰之m/z 443子代質譜圖



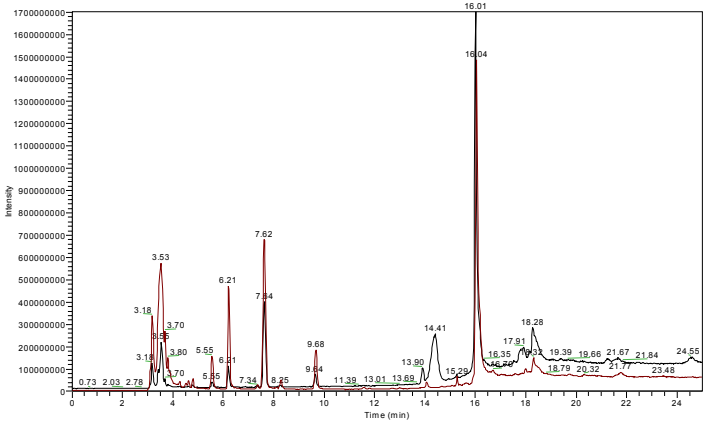
圖十: LC/MS/MS分析於滯留時間13.00分鐘波峰m/z 454之子代質譜圖



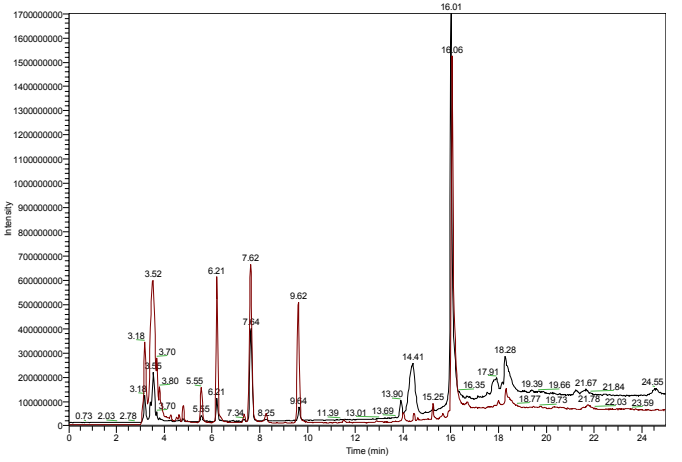
圖十一: 綠茶熱水沖泡(黑) v.s. 綠茶冷水沖泡2分鐘(紅)



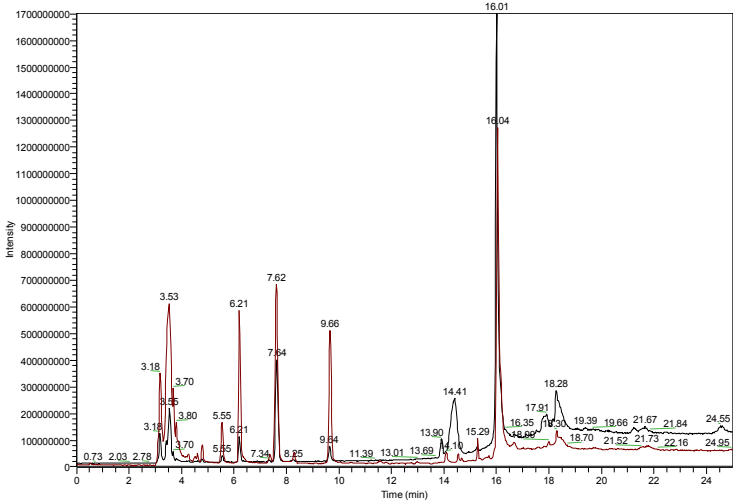
圖十二: 綠茶熱水沖泡(黑) v.s. 綠茶冷水沖泡30分鐘(紅)



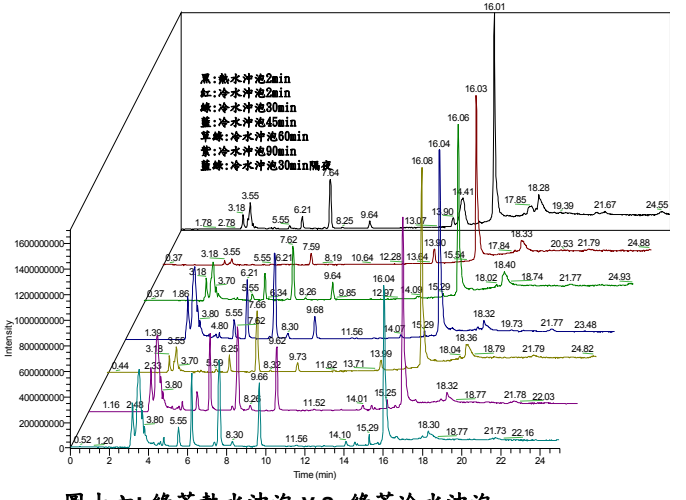
圖十三: 綠茶熱水沖泡(黑) v.s. 綠茶冷水沖泡45分鐘(紅)



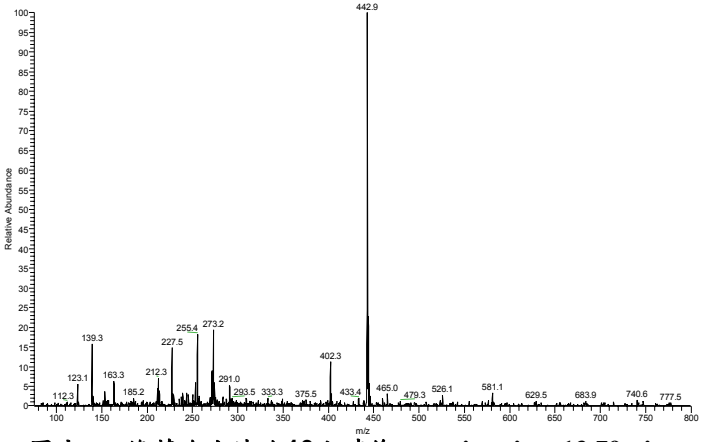
圖十四: 綠茶熱水沖泡(黑) v.s. 綠茶冷水沖泡90分鐘(紅)



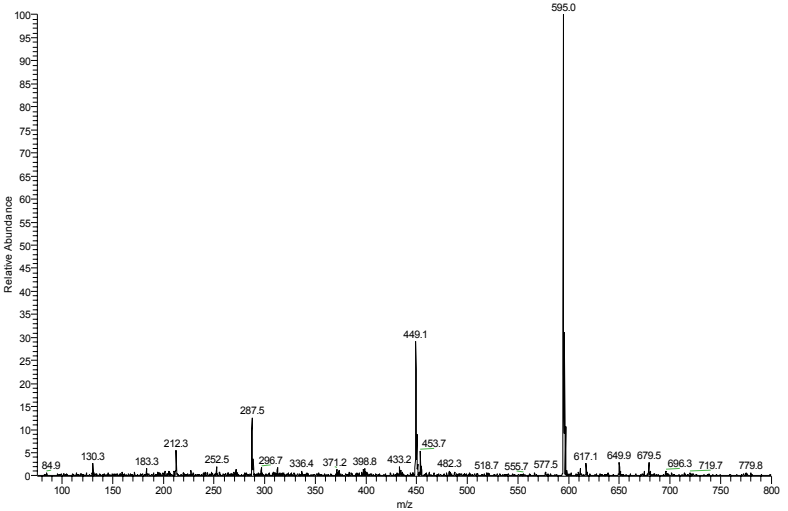
圖十五: 綠茶熱水沖泡(黑) v.s. 綠茶冷水沖泡30分鐘後置於冰箱隔夜(紅)



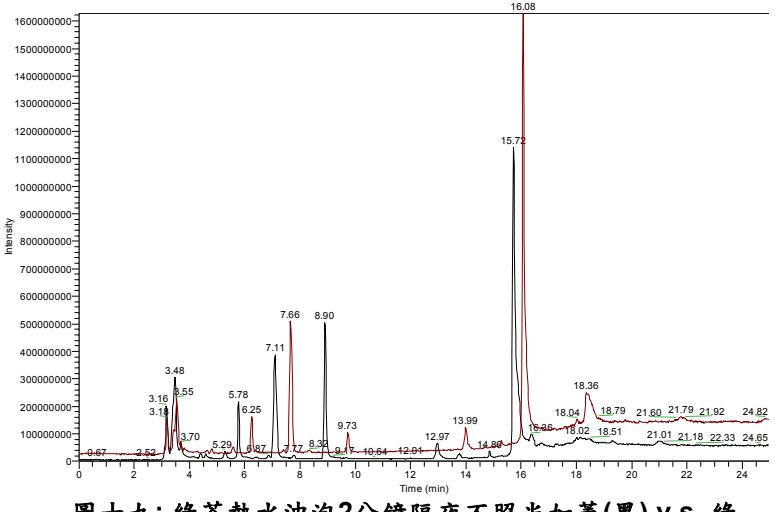
圖十六: 綠茶熱水沖泡 v.s. 綠茶冷水沖泡



圖十七: 綠茶冷水沖泡10小時後retention time 13.79min之質譜圖

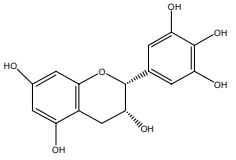


圖十八: 綠茶冷水沖泡10小時後retention time 14.88min之質譜圖

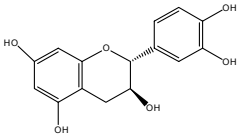


圖十九: 綠茶熱水沖泡2分鐘隔夜不照光加蓋(黑) v.s. 綠茶冷水沖泡30分鐘置於冰箱隔夜(紅)

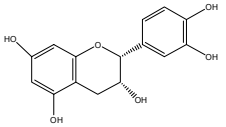
茶液中所含各種兒茶素（6種）之化學結構



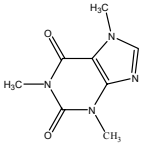
(-)-epigallocatechin(EGC)
MW=306



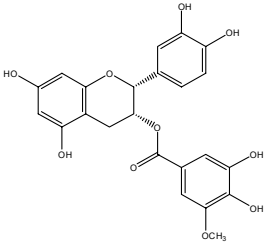
(+)-catechin(C)
MW=290



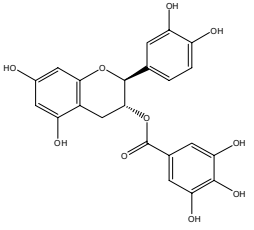
(-)-epicatechin(EC)
MW=290



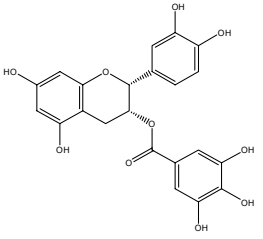
caffeine
M.W.=194



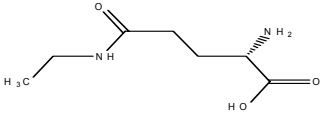
(-)-epicatechin methylgallate(ECMG)
MW=456



(-)-catechin gallate(CG)
MW=442



(-)-epicatechin gallate(ECG)
MW=442



theanine
M.W.=174

(二) 討論

1.本實驗爲利用 LC 連接 UV 與 MS 偵測器，分析茶的成分及其不同條件下的變化，質譜儀式以電灑法和大氣壓化學游離法測定。

2.配合含咖啡因和各種兒茶素的標準品溶液經 LC 分析，可以得到茶液成分含量最多的均爲咖啡因(R.T.爲 7.7 min)，其波峰最高，其它波峰則爲各種兒茶素或茶胺酸、茶鹼等成分。

3.由 HPLC 的分析結果顯示，每一種茶依序沖泡 1、2、3 或 4 分鐘後，再倒出分析之，發現各樣品咖啡因溶出量差異不大，但兒茶素則沖泡 1 分鐘者溶出量遠低於 2、3、4 分鐘的含量, 2、3、4 分鐘的量則近似，因此喝茶時如欲獲得較多的兒茶素，沖泡茶時應至少沖泡兩分鐘較理想。(如圖一)

4.泡妥未即刻喝掉的茶，若蓋著蓋子，可減緩質變，因爲未一直和新鮮空氣接觸，可避免兒茶素氧化。(如圖二、五、六)

5.泡好的紅茶加蓋去茶葉於 2 小時內飲用均可，若置冰箱冷藏，則 4 天後成分仍無明顯變化。故保低溫之涼茶，其隔夜茶應可安心飲用。

6.浸泡著茶葉的紅茶，即使加蓋置冰箱冷藏，其成分仍隨著時間而變化。故浸泡著茶葉的紅茶，隔天不宜飲用。

7.紅茶泡後若留茶葉又不加蓋，隨著時間愈久，成分變化愈大。

8.不加蓋時，比較發酵茶紅茶與半發酵茶觀音烏龍茶及未發酵茶綠茶的茶成份變化速率以綠茶最快，烏龍茶次之，紅茶則無變化 。

9.烏龍茶若不加蓋，由分析圖發現最理想爲 30 分鐘內喝完，綠茶則約 20 分鐘，若加蓋則保存時間可稍延長。

10.由以上三項結果可發現，泡好的茶成分是否穩定與其發酵程度似乎具相關性，全發酵茶較不易氧化，半發酵茶次之，未發酵茶則最容易氧化，事實乃因綠茶的兒茶素幾乎占了其乾重的 25%，紅茶則無。

11.三種茶包的實驗結果與散茶結果相同。

12.不論那一種茶只要置放至隔夜其茶液的 pH 值均明顯降低約 0.5。但只要是同一天的茶，不置放至隔夜其隨著時間，儘管 HPLC 的分析結果產生變化，其 pH 值變化卻並不明顯。

13.實驗結果發現沖泡紅茶及烏龍茶，茶葉浸泡著對 pH 值影響不大，但綠茶影響則較明顯，因浸泡越久，溶出的兒茶素越多，而多酚呈弱酸性，量越多 pH 當越低。

14.圖三、五、六顯示紅茶置放至隔夜不論是否照光、加蓋，溶出成分結構均未改變(圖五)，唯不照光不加蓋溶出量增加明顯;綠茶則兒茶素產生氧化(圖三)；烏龍茶亦然，不論照光、加蓋與否，其成分均產生變化(圖六)。

15.圖三顯示隔夜綠茶照光、加蓋與否，其成分均有不同之變化，但以不照光不加蓋之變化量最大，照光加蓋之變化量最小。即隔夜綠茶不照光及加蓋與否，均會影響其變化速率，所以白天置放八小時，則加蓋優於不加蓋。

16.依據圖三、七、八、九、十可以確認，綠茶置放八小時後的共同基本變化，爲其中一種分子量 456 的兒茶素（ECMG）經氧化變成分子量少 2(454)的 quino form，即氫氧基氧化變成醌基（quino），變化圖如結論 7(與文獻 8 符合)。其中烏龍茶的變化亦相同。另外增加分子量 442 的新兒茶素，其與兒茶素之化學結構中分子量亦爲 442 的兩種兒茶素爲同分異構物。

17.由圖四發現不論照光、加蓋與否，加了檸檬汁的綠茶其質譜圖之 19.07 分鐘 peak 相對應之兒茶素均氧化，即加了檸檬汁的綠茶並未因加檸檬汁，而改善其氧化現象。

18.由結果發現 R.T.14.41 min 的兒茶素爲 dimer，其與 R.T.16.01 min 的分子爲同分異構物。

19.經 LC/MS 分析發現 R.T.15.29 min 的兒茶素亦爲 dimer 。

20.最近坊間流行以冷開水沖泡茶葉，沖泡時間爲 1~2 小時，宣稱可溶出較高量的兒茶素及較低量的咖啡因，因此本實驗亦探討之。結果如圖十一~十九，顯示出沖泡 30 分鐘的冷茶，各種成分的溶出量已略多於沖泡 2 分鐘的熱茶，同時沖泡時間越久，溶出量雖如同熱茶亦越多，但並無熱茶之苦澀味，且無 R.T.14.41 min 的 dimer。

21.結果亦顯示冷茶沖泡時間越久，溶出的兒茶素增加倍率高於咖啡因者，此因兒茶素於室溫的溶解度大於咖啡因。

四、結論與應用

(一) 結論

1.實驗結果顯示，沖泡茶葉時，第一次以沖洗茶葉方式，沖泡後即刻倒掉，再泡第一泡茶的茶較不易發霉，比較合乎安全衛生原則。

2.不論那一種茶葉，白天沖泡後的茶，保存時加蓋，可減緩其兒茶素氧化變質及發霉。

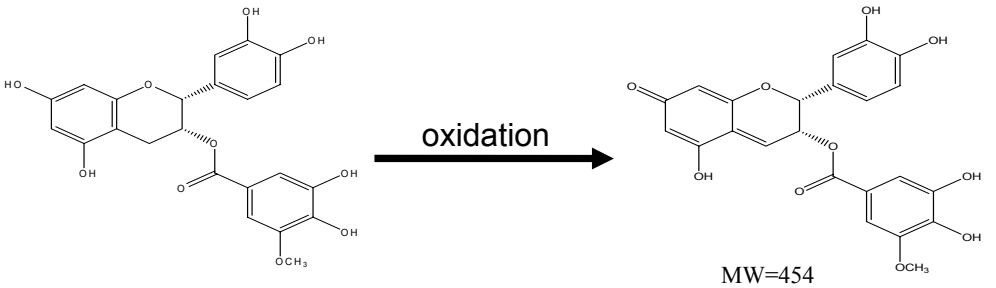
3.紅茶置放至隔夜成分變化不大。烏龍茶、綠茶則照光、加蓋與否，兒茶素均有氧化、聚合或結構轉成同分異構物等不同之變化。綠茶以不照光不加蓋變化量最大，照光時則加蓋與否量的變化不相同，結論爲久置的綠茶以照光加蓋最理想，不僅兒茶素的含量增加且產生氧化的量最少。

4.紅茶若不加蓋則不宜將茶葉或茶包浸泡於茶中久置。烏龍茶則不論加蓋與否均以浸泡著茶葉的成分變化較小，但基於考量浸泡著茶葉的茶口感較差，建議烏龍茶仍以沖泡後倒出，即刻飲用掉最理想。綠茶則不論茶葉是否浸泡，久置之成分變化均極明顯。因此，不論喝何種茶均以不浸泡著茶葉較理想。沖泡時間則以至少 2 分鐘爲佳。

5.泡好的紅茶加蓋去茶葉於 2 小時內飲用均可，若置冰箱冷藏，則 4 天後成分仍無明顯變化。故保低溫之涼茶，其隔夜茶應可安心飲用。綠茶依成分分析結果顯示沖泡後倒出，最好加蓋於 20 分鐘內喝完最理想。烏龍茶則適合於 30 分鐘內喝完。

6.未發酵綠茶含較多可氧化的兒茶素，幾乎占了其乾重的 25%，紅茶則無，故綠茶最容易氧化。

7.綠茶置放八小時後的共同基本變化，爲其中一種分子量 456 的兒茶素（ECMG）經氧化變成分子量少 2(454)的 quino form，即氫氧基氧化變成醌基（quino），變化圖如右。其中烏龍茶的變化亦相同。另外增加分子量 442 的新兒茶素，其與化學結構中分子量亦爲 442（CG, ECG）的兩種兒茶素爲同分異構物。



(-)-epicatechin

8.由結果發現 R.T.14.41 min 的兒茶素爲 dimer，其與 R.T.16.01 min 的分子爲同分異構物。

9.經 LC/MS 分析發現 R.T.15.29 min 的兒茶素爲 dimer。

10.仿間以冷開水沖泡茶葉，建議沖泡時間 30~60 分鐘，倒出的茶液可以置放冰箱冷藏以保鮮。

11.結果顯示冷茶沖泡時間越久，溶出的兒茶素增加倍率高於咖啡因者，故以冷開水沖泡茶應該是可行的。

12.不論照光、加蓋與否，添加了檸檬汁的綠茶其質譜圖之 19.07 分鐘 peak 相對應之兒茶素均氧化。

13.冷藏的任何茶加蓋均可保鮮約 4 天仍不變質。

(二) 應用

1.了解正確的喝茶觀念。

2.了解茶液久置及隔夜其成分的變化結果。

3.隔夜茶不適合飲用的民間傳說，經由本實驗探究，其實係因無冰箱時代，茶無法冷藏保鮮，而容易發霉（1~2 天，眼睛無法辨識），且經久置兒茶素氧化了。常飲用之，可能有損健康，此有賴病理學家繼續探討之。

五、參考文獻

(一)吳嘉麗，“化學醫藥與社會”一版，台北，安和出版社，p107-112，1999

(二)林敬二審譯，“儀器分析”，美亞書版有限公司，p629-623，1994

(三)陳英玲，“茶葉化學”，p85-90，1999

(四)賴正南編輯，“茶葉技術推廣手冊(製茶篇)”，台灣省茶葉改良場編印，1999

(五)蔡永生、張如華，“茶葉的包裝貯存”，p65-80

(六)S. Khokhar, D. Venema, Peter C. H. Hollman, M. Dekker, W, Jongen.1997 A RP-HPLC method for the determination of tea catechins, Cancer Letters ,114, p171-172

(七)Daniel J. Zeeb, Bryant C. Nelson, Klaus Albert and Joseph.J. Dalluge,2000 ” Separation and identification of twelve catechins in tea using liquid chromatography/ atomospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry”, Anal. Chem. , 72, p5020-5026

(八)Liwei Gu, Mark A. Kelm, John F. Hammerstone and Ronald L. Prior” Liquid chromatographic/electrospray ionization mass pectrometric studies of proanthocyanidins in food” J. Mass Spectrom. 2003;38:1272-1280

評語及建議事項

1. 本著作研究茶液受照光及貯存時間之影響，發現茶葉經泡後，紅茶較無變化，但烏龍茶則有些變化，無發酵處理之綠茶變化最快，本著作具應用價值。
2. 本著作之結果之表示法可再加強。