

超临界 CO₂ 流体萃取滇红茶及其提取物成分分析*

孙海林¹, 阮志国¹, 车彦云¹, 黄卫东^{2△}

(1. 云南中医学院, 云南 昆明 650500; 2. 云南白药天颐茶品有限公司, 云南 昆明 650034)

摘要: **目的** 考察超临界二氧化碳提取滇红茶香气成分的最佳工艺, 并对提取物成分进行分析。 **方法** 采用单因素试验考察夹带剂、茶叶粒度、萃取时间、萃取压力、萃取温度对提取率的影响, 再通过正交试验优化工艺条件; 用 GC-MS 方法进行化学成分分析。 **结果** 最佳工艺条件为: 夹带剂 250mL 无水乙醇、茶叶粒度 20 目、提取时间 0.5h、萃取压力 25MPa、萃取温度 45℃, 萃取率为 0.46%, 提取物经 GC/MS 检测到近 50 种成分。 **结论** 超临界 CO₂ 流体萃取技术可用于滇红茶有效成分的提取。

关键词: 超临界 CO₂; 滇红茶; GC-MS

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2015)04-0023-05

红茶是中国六大茶类中最具影响力的茶类之一, 中国是世界上最早生产和饮用红茶的国家, 而云南是乔木和小(半)乔木型大叶品种红茶的主产区之一。红茶为发酵茶, 在其特殊的加工过程中, 经发酵过程产生了大量的香气成分, 具有与其他茶类不同的独特品质。不同茶类因加工方法不同形成了风格各异的香气特征, 其香气是衡量茶叶品质的重要因素^[1], 香气成分的提取和分析测定一直是茶叶科研的一个重要领域。滇红茶主要产于云南省南部与西南部的临沧、保山、凤庆、西双版纳、德宏等地。产于云南的凤庆滇红因其独特的风味和优越的品质, 正受到越来越多的消费者喜爱, 对其香气成分的研究也就变得更加重要。目前, 茶叶香气成分的提取方法主要有同时蒸馏萃取^[2-7]、顶空固相微萃取^[8-13]和超临界 CO₂ 萃取^[14-19]。迄今为止, 已从各种茶叶中分离出 700 多种香气成分物质^[20]。茶叶中的香气物质组分复杂, 多为酯类、萜烯类化合物、不饱和脂肪酸类和其他一些热降解的组分, 且含量低、易挥发、不稳定。传统的提取方法如水蒸气蒸馏法、顶空分析法等, 在提取过程中由于受热、空气等条件的影响, 香气成分易发生热降解、氧化、缩合、聚合等复杂的化学反应, 使提取的香精油不能很好的反映茶叶本身的香气特征, 从而不能正确判断茶叶的

品质^[21]。

与一般液体萃取相比, 超临界二氧化碳萃取具有环保、效率高、萃取温度低、整个提取分离过程在暗场中进行, 能最大程度保留各组分的原有特性等优点^[22]。本研究采用超临界流体技术对云南凤庆滇红茶(H1-2 特级)进行萃取, 考察了携带剂用量、茶叶粒度、时间、压力、温度对萃取率的影响, 确定了最佳工艺条件并对提取物进行 GC/MS 分析, 为云南凤庆滇红的进一步开发提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

云南凤庆滇红茶(H1-2 特级); CO₂ 气体(食品级); 无水乙醇(分析纯)。

1.2 仪器与设备

HA221-50-06 型超临界流体萃取装置: 江苏南通华安超临界萃取有限公司; BUCHI-R-200 旋转蒸发器: 瑞士; HP6890GC/5973MS 气相色谱-质谱联用仪: 美国 Agilent Technologies 公司。

1.3 方法

1.3.1 超临界 CO₂ 萃取滇红茶工艺流程

超临界流体萃取仪开机预热、制冷, 取茶叶 150.00g 至 1 L 萃取釜, 等仪器各温度达到设置温度, 调节压力至所需压力, 加入夹带剂(无水乙醇)

* 基金项目: 云南白药、云南中医学院中医药教育创新基金项目(YB2012J03)

收稿日期: 2015-05-15

作者简介: 孙海林(1977-), 女, 安徽怀远人, 讲师, 主要从事天然产物有效成分的提取及分析工作。

△通信作者: 黄卫东, E-mail: ynbytycp@126.com

进行提取,提取结束,从分离釜 I、II 中收集提取物,计算萃取率。

$$\text{萃取率}/\% = \frac{\text{萃取物质量}/\text{g}}{\text{茶叶质量}/\text{g}} \times 100\%$$

1.3.2 GC-MS 分析条件

供试品的配制:将提取物减压浓缩至干,用无水乙醇将其转移到 25mL 容量瓶中,并定容。

GC 条件:HP-5MS 石英毛细管柱 (30mm×0.25mm×0.25μm);柱温:起始温度 40℃,程序升温 3℃/min 至 80℃,再 5℃/min 升温至 260℃,保持 60min;柱流量为 1.0mL/min;进样口温度 250℃;柱前压 100kPa;进样量 2.0mL;分流比 10:1;载气为高纯氮气。

MS 条件:电离方式 EI;电子能量 70eV;传输线温度 250℃;离子源温度 230℃;四极杆温度 150℃;质量范围 35~500;采用 wiley7n.l 标准谱库计算机检索定性。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 夹带剂用量对红茶萃取率的影响

固定条件:萃取温度 35℃、萃取压力 25MPa、分离 I 温度 38℃、分离 I 压力 7MPa、分离 II 温度 36℃、分离 II 压力 6MPa、萃取时间 2h、茶叶用量 150.00g(未粉碎)、CO₂ 流量 20L/h。考察夹带剂用量对萃取率的影响,结果如图 1 所示。

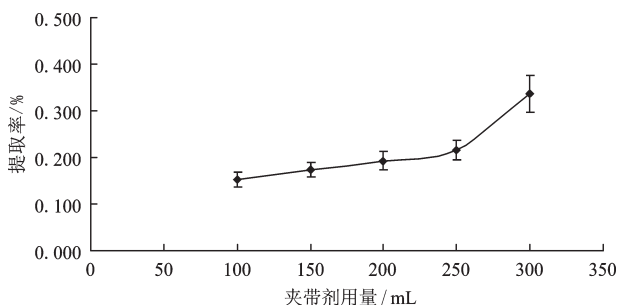


图 1 夹带剂对红茶萃取率影响

夹带剂也称为提携剂,它是在纯超临界流体中加入的一种少量的,可以与之混溶的,挥发性介于被分离物质与超临界组分之间的物质。夹带剂可以有两个方面影响超临界气体中的溶解度和选择性。一是溶剂的密度;二是溶质与夹带剂分子间的相互作用。一般来说,少量夹带剂的加入对溶质气体的密度影响不大,甚至还会使超临界溶剂密度降低,而影响溶解度与选择性的决定因素是夹带剂与溶

质分子间的范德华力或是夹带剂与溶质分子之间形成的特定分子间作用,如形成氢键及其他各种化学作用力等^[23-24]。而夹带剂用量的多少就会对结果产生很大影响。由图 1 可知,随着夹带剂用量的增加,萃取物质增加,夹带剂小于 250mL 时对萃取率影响较小,当用量达到 300mL 时,萃取率明显升高,但由于夹带剂加入量太大容易冲破萃取釜滤板,所以综合考虑选夹带剂用量 300mL 为较佳用量。

2.1.2 茶叶粒度对红茶萃取率的影响

固定条件:萃取温度 35℃、萃取压力 25MPa、分离 I 温度 38℃、分离 I 压力 7 MPa, 分离 II 温度 38℃、分离 II 压力 6MPa、萃取时间 2h、夹带剂用量 300mL、CO₂ 流量 20L/h。考察茶叶粒度对萃取率的影响,结果如图 2 所示。粒度是超临界流体萃取的一个重要参数,大多数情况下,对于中草药原料,如果不对其进行破碎,则萃出物的产率极低。而当原料破碎至一定程度时,效果大为改观。理论上,原料的粒度越小,萃取速度越快越完全。但粒度太小时,又会对气路通畅造成影响^[25],所以,粒度的选择很重要。相对茶叶而言,粒度越小浪费的就会越多,由图 2 可知,从 0 目(未粉碎)到 20 目萃取率在升高,粉碎过程中也造成了一定的浪费,从 20 目到 40 目萃取率变化不显著而浪费的茶叶却十分严重,所以选粒度 20 目为较佳粒度。

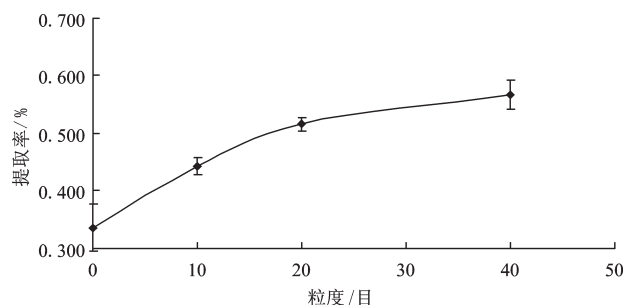


图 2 茶叶粒度对红茶萃取率的影响

2.1.3 萃取时间对红茶萃取率的影响

固定条件:萃取温度 35℃、萃取压力 25MPa、分离 I 温度 38℃、分离 I 压力 7MPa、分离 II 温度 36℃、分离 II 压力 6MPa、夹带剂用量 300mL 茶叶用量 150.00g(20 目)、CO₂ 流量 20L/h。考察萃取时间对萃取率的影响,结果如图 3 所示。

萃取时间也是较重要的影响因素。一般萃取时间越长,超临界流体与溶质接触的时间越长,萃取率越高。但当目标溶质提取趋于完全后,增加萃取

时间,超临界流体主要提取的是杂质而降低了目标溶质的纯度^[26]。另一方面,增加萃取时间也增加能耗,延长生产周期,增加了生产成本。故选择萃取时间时,综合考虑有一个最佳值。由图3可知,萃取时间从0.5h增加到2h产率并无明显变化,所以选取0.5h为较佳萃取时间。

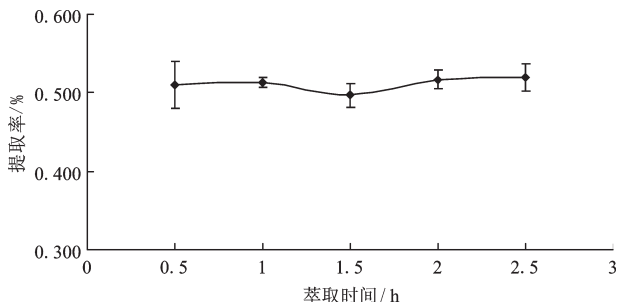


图3 萃取时间对红茶萃取率的影响

2.1.4 萃取压力对红茶萃取率的影响

固定条件:萃取温度 35℃、萃取时间 0.5h、分离 I 温度 38℃、分离 I 压力 7MPa、分离 II 温度 36℃、分离 II 压力 6MPa、夹带剂用量 300mL、茶叶用量 150.00g(20目)、CO₂ 流量 20L/h。考察萃取压力对萃取率的影响,结果如图4所示。

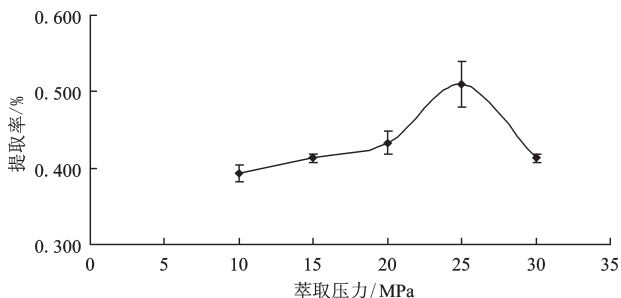


图4 萃取压力对红茶萃取率的影响

萃取压力是超临界提取中最重要的参数之一。温度一定时,萃取压力越高,流体的密度越大,对溶质的溶解能力越强,萃取所需要的时间越短,萃取越完全。但过高的萃取压力显然对萃取操作和设备的使用寿命不利。萃取压力不仅决定萃取能力,还显著地影响产物的选择性^[27]。由图4可知,从10MPa到25MPa中随着压力的增加产率随之升高,而25MPa以后产率降低,表明25MPa时萃取率最高,故选取25MPa为较佳萃取压力。

2.1.5 萃取温度对红茶萃取率的影响

固定条件:萃取压力 25MPa、分离 I 压力 7MPa、分离 II 温度 36℃、分离 II 压力 6MPa、萃取时间

0.5h、夹带剂用量 300mL、茶叶用量 150.00g(20目)、CO₂ 流量 20L/h。考察萃取温度对萃取率的影响,结果如图5所示。

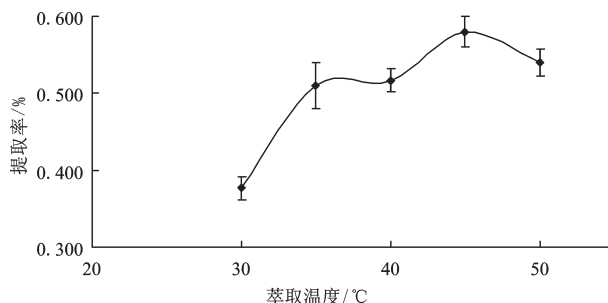


图5 萃取温度对红茶萃取率的影响

萃取温度是超临界流体萃取的另一个重要影响参数。温度对超临界流体溶解能力的影响比较复杂。在一定的压力下,升高温度有利于溶质挥发性的增加和扩散速度的提高,进而有利于溶质的萃出。但另一方面,温度升高时超临界流体的密度减小,从而导致流体溶解能力的降低,对萃取不利^[28-29]。因此,萃取温度对萃取效率的影响常常有一个最佳值。由图5可知,30℃到45℃时随着温度的升高产率上升,当温度再上升产率反而变低,表明45℃为较佳萃取温度。

2.2 正交实验

根据影响超临界流体萃取的单因素考察结果,发现夹带剂用量、萃取温度、萃取压力3项指标对萃取率的影响较大,故固定茶叶粒度20目、提取时间0.5h,将夹带剂用量、萃取温度、萃取压力这3项指标设为正交实验的考察因素,通过L₉(3⁴)正交设计表考察最佳提取工艺,见表1、表2、表3。

由正交实验表得到最佳工艺为:A₂B₃C₃,即夹带剂用量250mL、压力25MPa、萃取温度45℃、茶叶粒度20目、提取时间0.5h。

根据表2正交实验结果和表3方差分析表可知:三个因素中,萃取温度C对萃取率的影响最大,夹带剂用量A的影响≈萃取压力B的影响。

表1 正交实验L₉(3⁴)因素水平表

水平	因素		
	夹带剂用量/mL	萃取压力/MPa	萃取温度/℃
	A	B	C
1	200	15	35
2	250	20	40
3	300	25	45

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验数据结果

实验号	因素				萃取率 /%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.251
2	1	2	2	2	0.318
3	1	3	3	3	0.371
4	2	1	2	3	0.313
5	2	2	3	1	0.382
6	2	3	1	2	0.349
7	3	1	3	2	0.400
8	3	2	1	3	0.300
9	3	3	2	1	0.344
T_{ij}	0.313	0.321	0.300	0.326	
T_{ij}	0.348	0.333	0.325	0.356	
T_{ij}	0.348	0.355	0.384	0.328	
R_j	0.035	0.034	0.084	0.030	

表 3 方差分析表

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
夹带剂用量/mL	0.002	2	1.000	19	
萃取压力/MPa	0.002	2	1.000	19	
萃取温度/℃	0.011	2	5.500	19	
误差	0.00	2			

2.3 工艺验证

根据正交实验结果,采用最佳工艺(夹带剂用量 250mL、萃取温度 45℃、萃取压力 25MPa、分离 I 温度 48℃、分离 I 压力 7MPa、分离 II 温度 36℃、分离 II 压力 6MPa、萃取时间 0.5h、茶叶用量 150.00g、茶叶粒度 20 目、CO₂ 流量 20L/h)进行工艺验证。结果如表 4 所示。

表 4 工艺验证结果

结果					平均	产率/%	RSD/%
0.70	0.63	0.70	0.69	0.69	0.682	0.455	0.087

按照最佳工艺条件进行工艺验证实验,茶叶萃取率为 0.455%,比正交实验中任何一个实验都要高,故该条件为最佳工艺条件。

2.4 GC/MS 检测

经 GC/MS 检测,得到近 50 种成分。总离子流图见图 6,化合物及含量百分数如表 5 所示。

由表 5 可知,5 组提取物的成分相似度很高,主要成分为醇类、酯类等化合物。

表 5 红茶香气成分的物质组成及相对含量

序号	化合物	相对含量/%				
		1#	2#	3#	4#	5#
1	丁醇	0.02	0.08	0.02	0	0
2	3-甲基丁醇	0.05	0.04	0.04	0.06	0.02
3	2-甲基丁醇	0.02	0.04	0.02	0.02	0.01
4	芳樟醇	0.05	0.09	0.05	0.05	0.03
5	3-甲氧基-2-甲基吡咯	0.05	0.04	0.05	0.04	0.03
6	苯乙醇	0.06	0.03	0.05	0.04	0.02
7	吡喃型芳樟醇氧化物	0.03	0.04	0.02	0.02	0.02
8	水杨酸甲酯	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
9	1,6-脱水-β-D-吡喃葡萄糖	0.09	0.06	0.23	0.12	0.12
10	十二烷酸	0.04	0.10	0.02	0.02	0.02
11	十四烷酸	0.04	0.05	0.02	0.02	0.02
12	新植二烯	0.92	0.65	1.69	1.16	1.18
13	3,7,11,15-四甲基-2-十六碳烯	0.07	0.10	0.14	0.05	0.09
14	咖啡因	39.17	47.19	15.83	31.62	35.31
15	新植二烯异构体	0.40	0.40	0.42	0.36	0.34
16	可可碱	1.05	1.05	1.23	1.21	1.02
17	植醇异构体	1.06	1.38	0.98	1.02	0.80
18	十六烷酸甲酯	0.08	0.07	0.11	0.09	0.06
19	十六烷酸	5.30	6.72	3.58	6.60	3.79
20	十六烷酸乙酯	0.03	0.06	0	0.04	0.02
21	十八碳二烯酸甲酯	0.08	0.06	0.02	0.05	0.03
22	十八碳三烯酸甲酯	0.06	0.06	0.02	0.05	0
23	植醇	1.37	1.52	0.83	1.61	0.92
24	十八碳二烯酸	2.39	3.04	1.36	2.45	1.69
25	十八碳三烯酸	4.41	5.58	3.46	5.12	3.60
26	十八烷酸	0.48	1.13	0.42	0.85	0.49
27	N-苯基-2-萘胺	0.18	0.30	0.20	0.36	0.11
28	二十五烷	0.11	0.14	0.09	0.20	0.04
29	二十七烷	0.29	0.24	0.26	0.26	0.24
30	辛酸香叶酯	0.15	0.14	0.34	0.14	0.08
31	角鲨烯	0.28	0.26	0.48	0.34	0.36
32	二十九烷	0.61	0.28	0.34	0.74	0.87
33	癸酸橙花酯	0.15	0.12	0.20	0.16	0.25
34	癸酸香叶酯	0.16	0.12	0.15	0.17	0.19
35	γ-生育酚	4.54	3.15	7.54	5.23	5.92
36	二十八烷醇	0.53	0.31	0.42	0.69	0.73
37	维生素 E	2.87	1.67	3.80	2.54	2.91
38	二十烷酸苄酯	0.34	0.11	0.70	0.24	0.26
39	豆甾-7,25-二烯-3-醇	16.85	12.00	29.02	18.57	21.17
40	β-香树素	0.99	0.58	1.57	1.11	1.05
41	3-Phytylmenadione	0.39	0.12	0.51	0.36	0.23
42	豆甾-7-烯-3-醇	5.91	3.58	9.41	5.99	6.57
43	二十二烷酸苄酯	0.75	0.41	1.10	0.89	0.92
44	二十四烷酸苄酯	0.33	0.21	0.46	0.44	0.52

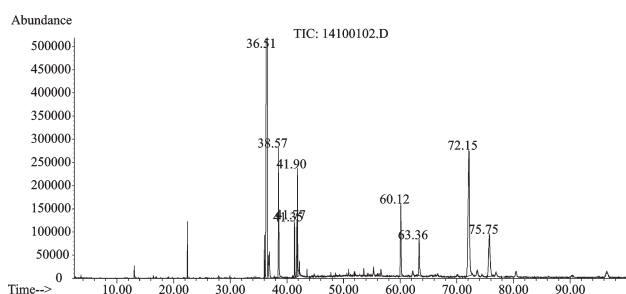


图6 红茶香气成分总离子流图

3 结论

通过单因素实验和正交实验对影响超临界 CO₂ 流体萃取茶叶的各因素进行了研究,得到萃取云南凤庆滇红茶的最佳工艺为:夹带剂用量 250mL、萃取温度 45℃、萃取压力 25MPa、分离 I 温度 48℃、分离 I 压力 7MPa、分离 II 温度 36℃、分离 II 压力 6MPa、萃取时间 0.5h、茶叶用量 150.00g(20 目)、CO₂ 流量 20L/h,萃取率为 0.46%,提取物经 GC-MS 检测,含近 50 种成分,各组提取物检测结果相似度高,主要成分为醇类、酯类等化合物。

参考文献:

- [1] 侯冬岩,回瑞华,李铁纯,等. 茶叶香气成分的研究——乌龙茶与鲜茶香气成分的比较 [J]. 鞍山师范学院学报, 2003,5(6):53-55.
- [2] 丁芳林,董益生,彭书练. SDE-GC-MS 法测定茶叶中的挥发性成分[J]. 中国酿造,2009(4):147-150.
- [3] 任洪涛,周斌,夏凯国,等. 不同级别云南功夫红茶香气成分比较分析[J]. 南方农业学报,2012,43(4):489-492.
- [4] 蒋美红,包崇彦,念小魁,等. 红茶烟用香料的制备、分析及应用[J]. 茶叶科学,2007,27(2):117-119.
- [5] 陈继伟,梁名志,罗正飞,等. 南糯山古树红茶香气化合物的组分研究 [J]. 安徽农业科学,2010,38 (33):18734-18736.
- [6] 吕才有,单治国,刘勤晋. 普洱茶后发酵中的香气成分变化分析[J]. 食品科学,2009,30(10):252-256.
- [7] 颜振敏,吴艳兵,冯俊旗,等. 普洱茶挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 光谱实验室,2012,29(4):2235-2237.
- [8] 薛蕾,王道平,宋培浪,等. SPME-GCMS 对一种红茶沏前沏后香气成分变化分析 [J]. 安徽农业科学 [J]. 2013,41 (34):13380-13382.
- [9] 吕世懂,姜东华,杨凡,等. 顶空固相微萃取/GC-MS 分析普洱熟茶与安化黑茶香气成分 [J]. 热带作物学报, 2013,34(8):1583-1591.
- [10] 李建勋,杜丽平,王超,等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用法分析黑茶香气成分 [J]. 食品科学,2014,35

(2):191-195.

- [11] 刘晓慧,张丽霞,王日为,等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用法分析黄茶香气成分 [J]. 食品科学, 2010,31(16):239-243.
- [12] 王秋霜,陈栋,许勇泉,等. 广东红茶香气成分的比较研究[J]. 茶叶科学,2012,32(1):9-16.
- [13] 金冬双,龚淑英,林宇皓,等. 小叶种夏秋茶渥堆加工过程中香气成分研究[J]. 茶叶科学,2009,29(2):111-119.
- [14] 谭乐和,尹桂豪,章程辉,等. 超临界 CO₂ 萃取/气相色谱-质谱联用分析糯米香茶中的挥发油 [J]. 热带作物学报,2008,29(4):530-534.
- [15] 黄长修,王宏涛,蓝洪桥,等. 超临界 CO₂ 萃取铁观音茶叶香气成分[J]. 化学工程,2010,38(12):1-4.
- [16] 张凌云,梁月荣,曹顺爱. 超临界 CO₂ 流体萃取及其在茶叶深加工中的应用 [J]. 粮油加工与食品机械,2002(2): 31-33.
- [17] 陈景正,杨运红,苏洪军,等. 超临界萃取红茶致香成分的研究及其在烟草中的应用 [J]. 分析测试技术与仪器, 2010,16(1):48-51.
- [18] 司辉清,沈强,庞晓莉. 新型花茶的香气特征研究[J]. 茶叶科学,2010,30(3):167-172.
- [19] 沈强,潘科,司辉清,等. 新型珠兰花茶的化学成分分析 [J]. 贵州农业科学,2011,39(8):72-76.
- [20] 王秋霜,陈栋,吴华玲. 红茶香气研究进展[J]. 广东农业科学,2011(18):86-88.
- [21] 李永菊. 茶叶香气的提取方法 [J]. 茶叶科学技术,2006 (4):15-16.
- [22] 柏立浩,张丽. 超临界流体萃取技术在中药研究中的应用与发展[J]. 西部中医药,2013(2):114-118.
- [23] 刘晓庚,陈梅梅,谢亚桐. 夹带剂及其对超临界 CO₂ 萃取效能的影响[J]. 食品科学,2004,25(11):353-357.
- [24] 张红英,颜雪明. 超临界萃取技术在中草药研究中的应用[J]. 盐城工学院学报(自然科学版),2014(3):54-57.
- [25] 王伟,卢佳. 超临界流体 CO₂ 萃取技术的研究与分析[J]. 价值工程,2012,31(13):35.
- [26] 卢朝国. 超临界 CO₂ 萃取芦荟有效成分的工艺研究[D]. 郑州:郑州大学,2007.
- [27] 杨靖. 超临界流体萃取茶叶香气成分的研究 [J]. 食品科技,2008,33(6):83-85.
- [28] 梁靖,须海荣,蒋文莉,等. 温度对茶叶香气的影响[J]. 茶叶,2002(4):194-196.
- [29] 王玉,郑欣,唐宝珠. 超临界流体萃取技术在天然药物提取中的分析[J]. 中国现代药物应用,2013,7(17):226-227.

(编辑:杨阳)

(英文摘要见第 37 页)

- [12] Clarkson PM, Nosaka K, Braun B. Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation [J]. *Med Sci Sports Exerc*, 1992, 24(5):512-520.
- [13] Lee J, Goldfarb AH, Rescino MH, et al. Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness [J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2002, 34(3):443-448.

- [14] 崔玉鹏, 杨则宜. 血清 CK 活性变化与运动导致的骨骼肌损伤 [J]. *中国运动医学杂志*, 2004, 23(3):343-347.
- [15] 刘振宇, 张晓辉, 陈万. 负压-常压病劳恢复过程中血乳酸、肌酸激酶等指标的特征分析 [J]. *山东体育科技*, 2014, 36(5):76-79.

(编辑:徐建平)

Transcutaneous Electrical Acupoint Stimulation Effects on Serum Lactate and Creatine Kinase of College Athletes

YOU Shijing¹, YI Hongmei², WU Zhuile¹, HE Furong¹, HE Lingling¹, LI Shoujiang, XIA Yong^{3△}

(1. Acupuncture and Moxibustion College of Fujian University of TCM, Fuzhou 350122, China;

2. Department of Physical Education of Fujian University of TCM, Fuzhou 350122, China;

3. Acupuncture-moxibustion and Tuina College of Shanghai University of TCM, Shanghai, 201203, China)

ABSTRACT: Objective To observe how the transcutaneous electrical acupoint stimulation effects on of serum lactate and creatine kinase of the college athletes of intensive physical training. **Methods** 45 male college athletes were randomly divided into the control group, the treatment group 1 and the treatment group 2. 15 people in each group. Each group was training intensively for 2 weeks, evaluating physical subjective feelings and testing athletes values of serum lactate and creatine kinase of each group before and after training respectively. **Results** Compared with the serum lactate and creatine kinase of the athletes of control group before and after the experiment, there was very significant difference ($P < 0.01$). Compared with the serum lactate and creatine kinase of treatment group 1 and 2 before and after the experiment, there was significant difference ($P < 0.05$). After the experiment, compared with the serum lactate and creatine kinase of control group, there is a significant difference ($P < 0.05$) between the treatment group 1 and 2. The values of the physical subjective feelings of each group compared with the values before the experiment also have a very significant difference ($P < 0.01$); after the experiment, the subjective physical feeling values of the treatment group 1 and 2 have significant differences ($P < 0.05$) compared with the model group; compared with the treatment group 1 and 2 there is no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** Excessive exercise training can cause our body fatigue and increase the content of serum lactate and creatine kinase. Transcutaneous electrical acupoint stimulation can improve the state of fatigue and enhance athletic ability, as well as reduce the the content of the serum lactate and creatine kinase. The transcutaneous electrical acupoint stimulation has a role in preventing and treating exercise-induced fatigue.

KEY WORDS: transcutaneous electrical acupoint stimulation; Lactate; creatine kinase; exercise-induced fatigue

(原文见第 23 页)

Supercritical CO₂ Extraction of Dianhong Tea and Analysis of Its Extract Components

SUN Hailin¹, RUAN Zhiguo¹, CHE Yanyun¹, HUANG Weidong^{2△}

(1. Yunnan University of TCM, Kunming 650500, China; 2. Yunnan Baiyao Teayield Co., Ltd., Kunming 650034, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the supercritical CO₂ extraction procedure of Dianhong Tea, and analyze the components of extracts. **Methods** The effect factors including entrained, the feel particle, extraction time, extraction pressure and the extraction temperature were investigated by single factor method, then through the orthogonal tests optimize processing conditions. the extract were identified by GC-MS. **Results** The optimum extraction parameters were established with the entrainer of 250 mL ethanol, the feel particle of 20 meshes, the extraction time of 0.5 h, the extraction pressure of 25 MPa, the extraction temperature of 45°C, the yield was up to 0.46%, and 50 kinds of components were identified. **Conclusion** Supercritical fluids extraction can be used to extract the effective components of Dianhong Tea.

KEY WORDS: Supercritical CO₂; Dianhong Tea; GC-MS