

製程與採收季節對茶葉抽出物抗氧化活性之影響

黃志煜¹、吳志鴻¹、張振生²、葉永廉²、張上鎮³

【摘要】本研究分別針對不同製造過程茶葉及不同採收季節之精製茶進行抗氧化活性比較。茶葉抽出物係以甲醇萃取，然後續以高效能液相層析儀對各製程與各採收季節茶葉中之主成分作定量分析，了解其間的差異；至於茶葉抽出物之抗氧化能力評估則採用 DPPH 自由基清除試驗以及總酚類含量測定之。試驗結果顯示，不同的製造過程確實會對茶葉的抗氧化活性造成影響，其抗氧化能力依序為精製茶>粗製茶>新鮮茶葉，此乃因為精製茶的兒茶素含量最高，而新鮮茶葉的含量最低，由此得知加工越多的茶葉，其酚類化合物的含量會增多，且其抗氧化能力越強。至於不同採收季節精製茶之抗氧化特性，試驗結果顯示，生長氣候對茶葉中之成分具有相當的影響，其中，以冬茶的抗氧化能力最好，秋茶次之，春茶最差，此乃因為冬茶的兒茶素含量最高，而春茶的含量最低。

【關鍵詞】茶、抗氧化、兒茶素、DPPH 自由基清除試驗、總酚類含量。

Influence of Manufacturing Processes and Harvesting Seasons on the Antioxidant Activity of Tea Extracts

Chih-Yu Huang¹, Jyh-Horng Wu¹, Cheng-Sheng Chang², Yung-Lien Yeh²
and Shang-Tzen Chang³

【Abstract】 To understand the influence of manufacturing processes and harvesting seasons on antioxidant activity of tea extracts, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging effect and total phenolic contents were evaluated in this study. In addition, the catechin contents of methanolic extracts from various tea specimens, including (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) and (-)-epicatechin gallate (ECG), were also quantified by using high performance liquid chromatography (HPLC). Results demonstrate that antioxidant activity is actually affected by manufacturing processes. The DPPH radical scavenging effect is in the order of refined tea, crude tea, and fresh leaves, since refined tea contains much more catechins than fresh leaves does. Accordingly, the more processes are involved in tea manufacturing; the tea with better antioxidant activity is produced. On the other hand, harvesting season also affects it significantly.

-
1. 國立台灣大學森林環境暨資源學研究所碩士班、博士班研究生。
Graduate Students, Department of Forestry and Resource Conservation, National Taiwan University.
 2. 國立台灣大學實驗林助理研究員、鳳凰茶園主任。
Assistant Researcher and Manager of Feng-Hwang Tea Farm, Experimental Forest, National Taiwan University.
 3. 國立台灣大學森林環境暨資源學系教授 (通訊作者)，臺北市 106 羅斯福路四段一號國立台灣大學森林環境暨資源學系。
Professor (Corresponding Author), Department of Forestry and Resource Conservation, National Taiwan University. No. 1, Sec. 4, Roosevelt Rd., Taipei 106, Taiwan.

Among the tested tea specimens, the crude extract of winter tea shows an excellent antioxidant activity. On the contrary, spring tea shows the worst as a result of the less catechin contents.

【Key words】 Tea, Antioxidant, Catechin, DPPH radical scavenging assay, Total phenolic contents.

一、前言

從古至今，「茶」一直是我們生活中不可或缺的飲料，再加上近年來天然健康食品的提倡，茶所扮演的角色更是舉足輕重，並成為相當熱門的研究主題，但當我們面對市面上林林種種的茶葉，該如何做選擇呢？在一般的觀念中，人們都極注重春茶，其評等及價格都高出許多，這種上品茶“貴早”的觀念，其實是在農耕社會中匱乏經濟下「物以稀為貴」的一個產物，因為節令越早，某種特定農產品的出產量就越少。宋代在品茶的時間上便沒有一味的以早為貴，當時茶不過是一種單純的農業產品，它最終產品形式是要經過加工的，其品質的高低還要看它的加工工藝及人力、技術與財力的投入，以及由此而產生的加工附加價值（沈冬梅，1999）。茶葉的採收與製茶其實是四季都在進行的，因此，市面上的茶葉依季節區分為春、夏、秋、冬四種，除在售價與品嚐的口感有所不同之外，更因加工製造過程的不同（新鮮茶葉、粗製茶、精製茶），茶葉產品的品質與價格也有很大的差異，由此推斷不同生長季節及製造過程，對茶葉所含的成分及其組成比例應有所影響。

茶葉及茶湯中所含的化學成分包含多元酚（Polyphenols）、咖啡因（Caffeine）、胺基酸（Amino acids）、含氮物質（Nitrogenous compounds）、維他命、無機物以及其他的成分（Yamamoto *et al.*, 1997）。其中，多元酚是相當受到注意的成分，科學家從茶葉中發現許多種酚類化合物，其含量約佔茶葉乾重的 30%，酚類化合物是茶湯苦味與澀味的主要來源，也是使茶具有抗氧化效能的重要角色（郭智宏，1999）。這些多元酚主要由(-)-Epigallocatechin gallate((-)-EGCG)、(-)-Epigallocatechin((-)-EGC)、

(-)-Epicatechin gallate((-)-ECG) 以及(-)-Epicatechin((-)-EC) 四種兒茶素所組成（Yamamoto *et al.*, 1997），其結構在自身氧化後，可藉由電子位移形成較穩定的酚自由基（Phenoxy radical），故茶葉具有很好的抗氧化活性（郭智宏，1999）。本研究以 DPPH 自由基清除試驗（DPPH radical scavenging assay）及總酚量（Total phenolic contents）之測定，針對不同製造過程與不同採收季節生產的茶葉進行抗氧化活性的測定與評估，並以高效能液相層析儀（High performance liquid chromatography, HPLC）對各茶葉甲醇抽出物中之主成分作定量分析，以了解其間成分含量的差異性。

二、材料與方法

(一) 試驗材料

1. 試藥

(-)-Epigallocatechin gallate((-)-EGCG)、(-)-Epigallocatechin((-)-EGC)、(-)-Epicatechin gallate((-)-ECG)、(-)-Epicatechin((-)-EC)、(+)-Catechin((+)-C)、Caffeine、1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)、Folin-Ciocalteu 試劑以及沒食子酸（Gallic acid）購自 Sigma 公司，Sodium carbonate (Na₂CO₃) 購自 Acros 公司，甲醇則購自 Merck 公司。

2. 茶葉

台灣四大茗種為青心烏龍、青心大有、硬枝紅心以及大葉烏龍。其中，尤以青心烏龍及青心大有種植面積最廣（陳右人，1995），因此，本試驗以青心大有為試驗對象，探討不同製程及採收季節對茶葉抽出物抗氧化活性之影響。茶葉採自南投縣鹿谷鄉鳳凰村台大實驗林清山溝營林區 12 林班的鳳凰茶園（於民國 91

年當季採收及製茶)。

不同採收季節的比較以春、夏、秋、冬四季的精製茶來進行試驗；另外，針對不同製造過程的比較則是以秋茶進行試驗，試樣種類包括新鮮茶葉、粗製茶以及精製茶三種。

(二) 試驗方法

1. 茶葉抽出物之製備

茶葉抽出物的製備方法為先將茶葉試材經過冷凍乾燥機乾燥，取 10 g 的乾燥茶葉用 500 mL 的甲醇萃取，存放於室溫下。因為精製茶的形狀較圓且不易泡開，所以必須把精製茶先打成粉末狀再進行萃取。浸泡約三天後，將萃取過的甲醇萃取液濃縮乾燥，再以冷凍乾燥機除去殘留的水分。此外，一次萃取後之試材，續以上述相同方式重複萃取兩次，即得我們所需的茶葉抽出物。

2. HPLC 分析茶多酚類含量

採用高效能液相層析儀系統(HPLC, Jasco, Japan)，分離管柱採用 C18 管柱(250 mm × 4.0 mm, 5 μm, Varian polaris, USA)，沖提液之溶劑 A 為水，溶劑 B 為甲醇，以梯度移動相的條件來沖提(0~5 min, 20%溶劑 B；至 15 min 達 60%溶劑 B；20 min 達 100%溶劑 B)，注射量 10 μL，流速為 1.0 mL/min，檢測波長 280 nm。

3. DPPH 自由基清除試驗

參考 Gyamfi 等人之試驗方法(Gyamfi *et al.*, 1999)：取 1000 μL DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) 乙醇溶液(0.1 mM)、450 μL Tris-HCl 緩衝液(50 mM, pH 7.4) 以及 50 μL 不同濃度(1、5、10、50 μg/mL) 之試驗樣品於小樣品瓶，混合均勻後於室溫下避光靜置 30 min，之後，以紫外光/可見光光譜儀(Jasco UV-550, Japan) 測量 517 nm 吸光值。當 DPPH 自由基被清除愈多時，其吸光值會下降的愈多，利用相對於空白對照組的吸光值減少百分

比，可判斷各試驗樣品清除 DPPH 自由基能力之強弱。

$$\text{DPPH 自由基抑制率}(\%) = (1 - (\text{實驗組吸光值} / \text{對照組吸光值})) \times 100$$

4. 抽出成分酚類化合物總量測定

茶葉的抽出成分中，總酚量(Total phenolic contents)之測定係採 Folin-Ciocalteu 法(Kujala *et al.*, 2000)，以沒食子酸(Gallic acid)為標準品進行檢測。試驗時，取 500 μL Folin-Ciocalteu 試劑(1 N)加入等量不同濃度(5、10、30 以及 50 μg/mL) 沒食子酸於微量離心管中。混合均勻並靜置 5 min 後，添加 1 mL 20% Na₂CO₃再靜置 10 min 之後，以離心方式(150g, 8 min) 將沉澱物與溶液分離，上層之澄清液續利用紫外光/可見光光譜儀測量波長 730 nm 之吸光值，並根據此吸光值與沒食子酸濃度之關係求出標準曲線之迴歸式。至於樣品分析，則以茶葉抽出物(1 mg/mL) 取代標準品(沒食子酸)，並依照相同方式進行反應與吸光值測量。將樣品吸光值代入上述迴歸式即可算出每克抽出物中所含沒食子酸相對量(Gallic acid equivalent, GAE)，並以此表示茶葉抽出物中酚類化合物的總量。

三、結果與討論

(一) 不同製程與採收季節對茶葉抽出物含量之影響

萃取兒茶素應選用什麼溶劑，各學者的說法不一，如 Kallithraka 等人(1995) 便指出 100% 甲醇為萃取的最好溶劑；而 Wang 等人(2000) 則認為宜降低溶劑的濃度，如使用 80% 的甲醇或 70% 的乙醇可以提高溶劑的萃取效果；另外，Khokhar 和 Magnusdottir (2002) 則認為以沸水來萃取可以達到最好的效果。因此，在溶劑的選用上並沒有統一使用何種溶劑，也沒有確定何種溶劑最適合用來萃取茶葉，但若使用熱水來萃取便如同我們在泡茶一般，較接近我們飲用的量與成分，只是在濃縮與乾

燥上較不易進行，欲取得乾燥的抽出物會比較困難。因此，基於萃取效果與抽出物之處理方便性，本試驗以甲醇為溶劑對不同製程與不同採收季節之茶葉進行萃取，試驗結果顯示不同製程之收率（新鮮茶葉，33.0%；粗製茶，34.9%；精製茶，33.9%）並無太大的差別，而不同採收季節之收率亦無明顯的差異（春茶，33.7%；夏茶，34.9%；秋茶，33.9%；冬茶，34.7%），因此不論製程或採收季節皆對萃取收率不造成影響。

(二) 不同製程與採收季節茶葉抽出物中兒茶素及咖啡因含量

由圖 1 茶葉抽出物之 HPLC 圖譜可以發現，茶葉中各主要成分之滯留時間順序為：EGC，6.3 min；咖啡因，8.9 min；EGCG，11.2 min；以及 ECG，13.6 min。此外，由定量分析結果得知秋天採收的新鮮茶葉、粗製茶及精製茶中兒茶素的含量為 75.0 mg/g、106.6 mg/g、105.5 mg/g（表 1），由此得知茶葉的加工製程會提高兒茶素的生成，此結論與 Lin 等人（2003a；2003b）所得之結果相似，推論其原因，可能是因為在加工過程中兒茶素會持續的生合成而增加，或是在製造過程中新鮮茶葉的外膜被破壞，故在萃取時茶葉細胞會釋放出較多的兒茶素。至於不

同採收季節對精製茶成分含量之影響，試驗結果顯示冬茶（110.6 mg/g）與夏茶（110.4 mg/g）的兒茶素含量較高，其次為秋茶（105.5 mg/g），以春茶最低（99.0 mg/g）；而咖啡因的含量則以春（28.4 mg/g）、夏（27.6 mg/g）兩季較高，其次為秋茶（24.5 mg/g），冬茶含量（22.0 mg/g）最少，由此得知兒茶素及咖啡因的生合成量確實會因採收季節不同而產生變異，季節所造成的變化最直接的就是陽光的照射量以及溫度的不同，而從 Sakakibara 等人（2003）的研究結果亦顯示陽光為影響兒茶素與咖啡因生成的重要因素。

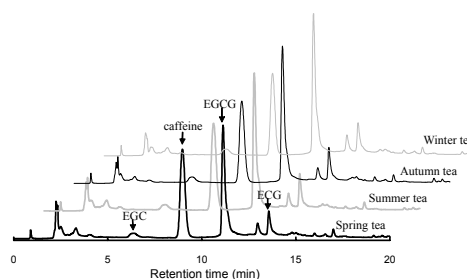


圖 1 四季茶葉之 HPLC 分析圖譜

Fig. 1 HPLC chromatograms of tea obtained from four seasons

表 1 各種茶葉中主要成分含量

Table 1 Contents of various tea specimens

Specimens	Constituents ^a (mg/g of tea)				
	Caffeine	EGC	EGCG	ECG	Total catechins
Spring tea (refined)	28.4 ± 0.1	31.7 ± 0.9	62.5 ± 2.1	4.8 ± 0.2	99.0
Summer tea (refined)	27.6 ± 0.1	34.3 ± 0.3	70.4 ± 0.9	5.7 ± 0.1	110.4
Autumn tea (fresh)	24.1 ± 1.2	21.0 ± 0.8	49.5 ± 2.5	4.4 ± 0.4	75.0
Autumn tea (crude)	21.9 ± 0.7	35.2 ± 1.9	66.8 ± 2.3	4.6 ± 0.1	106.6
Autumn tea (refined)	24.5 ± 0.5	32.3 ± 0.3	68.2 ± 1.2	5.1 ± 0.1	105.5
Winter tea (refined)	22.0 ± 0.5	36.3 ± 1.1	69.1 ± 1.8	5.3 ± 0.3	110.6

^a Each sample was triplicated in the test and results were mean ± SD.

(三) 不同製程與採收季節對茶葉抽出物清除 DPPH 自由基能力之影響

首先探討不同製程的茶葉抽出物對 DPPH 自由基清除能力之影響，由圖 2 可以發現，在低濃度時，不同製造過程的茶葉抽出物對自由基清除能力有明顯的差異，當茶葉抽出物的濃度低於 10 µg/mL 時，清除自由基的效果以精製茶為最佳，抑制率為 74.3%，其次是粗製茶，抑制率為 65.7%，而以新鮮茶葉效果最差，抑制率為 50.9%。此外，根據上述 HPLC 對不同製程茶葉抽出物定量的結果，得知加工製程會提高兒茶素生成，即經過人為的加工過程會增加茶葉的抗氧化成分，故提高了對 DPPH 自由基的清除能力。而各製程茶葉抽出物的濃度在超過 10 µg/mL 之後，其清除效果皆達到最大值，由此顯示低濃度茶葉抽出物便具有相當好的抗氧化力。

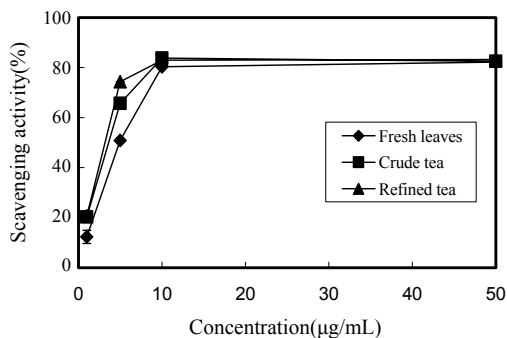


圖 2 不同製造過程秋茶之 DPPH 自由基清除能力
Fig. 2 DPPH scavenging activity of tea made by different manufacturing processes

至於不同採收季節之精製茶葉清除自由基的效果，由圖 3 可以發現，不同採收季節之茶葉抽出物清除自由基的能力有些許的差別，IC₅₀ 值大小依序為春茶 (3.2 µg/mL) > 夏茶 (2.9 µg/mL) > 秋茶 (2.6 µg/mL) > 冬茶 (2.5 µg/mL)，即秋茶與冬茶的清除自由基能力略高於春茶與夏茶；而當濃度高於 10 µg/mL 之後，四個季節的茶葉清除自由基的能力相同且達到最大，其自由基抑制率約為 82.5%。

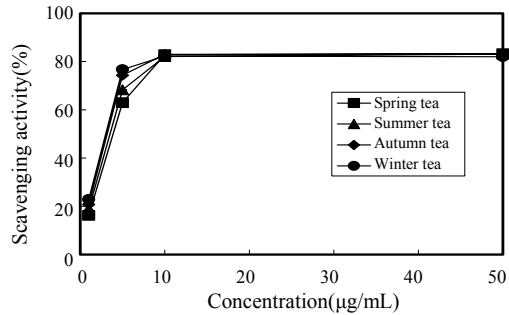


圖 3 不同採收季節精製茶葉之 DPPH 自由基清除能力

Fig. 3 DPPH scavenging activity of tea obtained from different harvesting seasons

兒茶素是茶湯苦味與澀味的來源 (郭智宏, 1999)，苦澀味實為大眾所排斥的，且一般品茶的標準都是以氣味及口感來評斷，因此評量結果以春茶為佳。本試驗結果顯示春茶的兒茶素含量較少，故苦味與澀味減少而使得口感較佳，但卻也使春茶清除自由基的能力降低；又本試驗結果亦顯示秋茶與冬茶為清除自由基能力較高者，因此就抗氧化的觀點，冬茶或秋茶為較佳的選擇，這與一般春茶為貴的觀念有所不同。此外，就咖啡因的含量而言，上述的分析結果 (表 1) 亦顯示，冬茶與秋茶的含量較春茶為少。

(四) 不同製程與採收季節茶葉抽出物之總酚量比較

比較不同製造過程對茶葉總酚類化合物含量之影響，其結果如表 2 所示，各製程茶葉總酚量由高至低依序為精製茶 (260.4 mg/g)、粗製茶 (249.2 mg/g) 以及新鮮茶葉 (220.3 mg/g)，由此得知工序越多的茶葉確實含有較多的酚類化合物，此結果與自由基清除試驗一致，再加上與 HPLC 對各製程茶葉抽出物定量之結果作比對，得知總酚量較高之精製茶，其兒茶素含量也較高，故清除自由基的能力較佳，換言之，加工過程可以提高茶葉抗氧化活性。

表 2 不同製造過程秋茶的總酚類含量

Table 2 Total phenolic contents of tea made by different manufacturing processes

Extracts	Total phenolics ^a (mg of GAE/g)
Fresh leaves	220.3±3.4
Crude tea	249.2±6.3
Refined tea	260.4±1.4

^a Each sample was triplicated in the test and results were mean ± SD.

不同採收季節精製茶的總酚類含量如表 3 所示，由表中的結果可以得知，酚類化合物含量最少者為春茶 (258.4 mg/g) 及秋茶 (260.4 mg/g)，夏茶的含量為 290.7 mg/g，而冬茶的酚類化合物含量 (315.3 mg/g) 最高。將上述 DPPH 自由基清除試驗以及 HPLC 定量兒茶素之結果拿來與總酚量測定相比對，發現清除自由基的能力與總酚類化合物含量之間並無顯著相關，如夏茶的總酚類化合物含量雖高，但清除 DPPH 自由基的能力卻較差。造成此結果的原因可能是抗氧化途徑有很多種，有的不是以直接捕捉自由基的方式來進行抗氧化，而是利用其他的機制，如直接調控 DNA 或其他的方式來達到抗氧化的效果 (Chang *et al.*, 2001)，所以，清除 DPPH 自由基試驗可能只表現出試材其單一類型的抗氧化能力。然而，DPPH 自由基清除試驗兼具快速與方便性，因此在抗氧化能力測定上仍被廣泛的應用 (Dávalos *et al.*, 2003)。

表 3 不同採收季節精製茶之總酚類化合物含量

Table 3 Total phenolic contents of refined tea obtained from different harvesting seasons

Extracts	Total phenolics ^a (mg of GAE/g)
Spring tea	258.4±10.1
Summer tea	290.7±18.0
Autumn tea	260.4±1.4
Winter tea	315.3±18.1

^a Each sample was triplicated in the test and results were mean ± SD.

四、結論

比較甲醇萃取所得青心大有茶葉抽出物的收率，得知不論製造過程或是採收季節對於萃取率皆無影響。至於茶葉的抗氧化活性，試驗結果顯示製造過程確實會對茶葉的抗氧化活性產生影響，加工越多的茶葉，其酚類化合物的含量越高，故使其抗氧化能力越強。對於不同採收季節所製造的茶葉，春茶雖為品茶評等第一，但若以 HPLC 定量、清除 DPPH 自由基能力的強弱以及總酚類含量高低的綜合比較下，春茶的抗氧化效果最差，因為其所含的兒茶素量較少，雖然少了兒茶素所帶來的苦澀，也少了兒茶素的抗氧化功效，又春茶所含的咖啡因含量最高；而冬茶的抗氧化活性最強，且在一般的茶葉評等之下，冬茶是僅次於春茶的好茶，若以抗氧化活性及咖啡因含量少為考量，冬茶是個很好的選擇，不失茶葉的甘醇美味並兼顧抗氧化的健康功效。

五、謝誌

本試驗承蒙台灣大學生物暨農學院實驗林管理處提供茶葉試材，並給予各種有關茶葉之資訊，特此致謝。

六、引用文獻

1. 李敏雄、陳湘中、閔丙宇 1989 萃取方法對茶單寧及兒茶素分析質之影響 中國農業化學會誌 27(1):82-88。
2. 沈冬梅 1999 宋代茶文化 學海出版社 pp. 11-278。
3. 阮逸明 1997 台灣之茶文化及其科學 台灣茶葉研究彙報 16:79-85。
4. 林荆南 1976 茶經白話淺釋 台灣區製茶工業同業公會 pp. 1-66。
5. 晏文潔、李家璞、杜平惠 2000 類黃酮抗氧化力與其結構之關係 台灣農業化學與食品科學 38(1):80-88。
6. 陳惠英、顏國欽 1993 茶葉抗致突變及抗癌之

- 研究概況 食品工業 25(12):14-21。
7. 張如華 1994 茶與人體保健 茶葉專訊 9:12-13。
 8. 陳右人 1995 本省主要茶樹品種介紹 茶葉專訊 11:1-3。
 9. 陳國任、李清柳 1998 茶葉製造與機械 台灣省茶葉改良場改制三十週年紀念特刊 pp.81-92。
 10. 郭智宏 1999 自然界抗氧化高手之一~兒茶素:兒茶素在生理抗氧化上之作用 食品工業月刊 31(9):27-33。
 11. 蔡泉寶 1995 茶經掠影 王家出版社 pp.1-280。
 12. 蔡琇萱、胡淼琳 1995 茶抽出液的抗氧化性及添加維生素 C 於茶抽出液中的穩定性 中國農業化學會誌 33(5):561-569。
 13. 蔡永生、張如華、林建森 2000 台灣現有產製茶類主要化學成份含量之分析與判別 台灣茶葉研究彙報 19:139-154。
 14. 鍾培芳、陳惠英、顏國欽 2000 加熱處理對茶飲料抗氧化特性之影響 台灣農業化學與食品科學 38(2):120-125。
 15. Chang, S. -T., J. H. Wu, S. -Y. Wang, P. -L. Kang, N. -S. Yang and L. -F. Shyur 2001. Antioxidant activity of extracts from *Acacia confuse* bark and heartwood. J. Agric. Food Chem. 49:3420-3423.
 16. Dávalos, A., C. Gómez-Cordovés and B. Bartolomé 2003. Commercial dietary antioxidant assayed for their antioxidant by different methodologies. J. Agric. Food Chem. 51:2512-2519.
 17. Gyamfi, M. A., M. Yonamine and Y. Aniya 1999. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana *Thonningia sanguinea* on experimentally-induce liver injuries. Gen. Pharmacol. 32:661-667.
 18. Kallithraka, S., C. Garcaviaguera, P. Bridle and J. I. Bakker 1995. Survey of solvents for the extraction of grapeseed phenolics. Phytochem. Anal. 6:265-267.
 19. Khokhar, S. and S. G. M. Magnúsdóttir 2002. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. J. Agric. Food Chem. 50:565-570.
 20. Kujala, T. S., J. M. Lopenen, K. D. Klika and K. Pihlaja 2000. Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. J. Agric. Food Chem. 48:5338-5342.
 21. Lin, Y.-S., S.-S. Wu and J.-K. Lin 2003a. Determination of tea polyphenols and caffeine in tea flowers (*Camellia sinensis*) and their hydroxyl radical scavenging and nitric oxide suppressing effects. J. Agric. Food Chem. 51:975-980.
 22. Lin, Y.-S., Y.-J. Tsai, J.-S. Tsay and J.-K. Lin 2003b. Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. J. Agric. Food Chem. 51:1864-1873.
 23. Sakakibara, H., Y. Honda, S. Nakagawa, H. Ashida and K. Kanazawa 2003. Simultaneous determination of all polyphenols in vegetable, fruits, and teas. J. Agric. Food Chem. 51:571-581.
 24. Wang, H., K. Helliwell and X. You 2000. Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. Food Chem. 68:115-121.
 25. Yamamoto, T., L. K. Juneja, D.-C. Chu and M. Kim 1997. Chemistry and Application of Green Tea. CRC Press, New York. 160 pp.