

# 气相色谱法测定茶多酚中的氯仿和乙酸乙酯残留

黄秋森

(福建中医学院药学系,福州 350003)

**摘要:** 以正己烷为萃取剂,对茶多酚(TP)水溶液进行萃取,用气相色谱法分析了 TP溶液中的残留物氯仿和乙酸乙酯。色谱柱为 2m ×3mm i d 不锈钢填充柱,固定相为 10%的 PEG20M,载体为 ChromosorbW /WA。氯仿和乙酸乙酯的回收率分别为 96.7% ~ 104.3%和 98.5% ~ 103.6%;相对标准偏差分别为 3.5%和 1.7%;最低检测限分别为 0.50ug/g和 0.36ug/g。

**关键词:** 气相色谱法;萃取;氯仿;乙酸乙酯;残留量;茶多酚

## Gas Chromatographic Determination of Residual Chloroform and Ethyl Acetate in Tea Polyphenols

Huang Qiusen

(Department of Pharmaceutical, Fujian College of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003)

**Abstract** A simple, rapid and reliable method for the determination of residual, chloroform and ethyl acetate in tea polyphenols(TP) by gas chromatography is reported. Chloroform and ethyl acetate in TP were extracted by n-hexane. The gas chromatographic separation was achieved on stainless steel column packed with 10% PEG 20M /Chromosorb W /WA and with flame detector. The ranges of recovery were 96.7% ~ 104.3% and 98.5% ~ 103.6%; the RSDs were 3.5% and 1.7% and the minimum detection limits were 0.50ug/g and 0.36ug/g for chloroform and ethyl acetate respectively.

**Key words** gas chromatography; extraction; chloroform; ethyl acetate; residual; tea polyphenols

茶多酚(Tea polyphenols)是从茶叶中提取分离得到的天然抗氧化剂。具有抗衰老、抗辐射、消除自由基、降血糖脂、防治心血管病等药理功能。目前已应用于食品、医药、化妆品等领域<sup>[1,2]</sup>。其生产方法主要有<sup>[3]</sup>:以绿茶或其角料为原料,热水浸提离子沉淀分离法;有机溶剂浸提树脂分离法;有机溶剂浸提、萃取分离法。其中有机溶剂浸提、萃取分离法由于茶多酚的得率高,生产成本较低得到较广泛的应用。在此方法中,氯代甲烷(如氯仿、二氯甲烷)由于在去除色素、树脂和脱除咖啡咽等方面效果显著常被用于去杂工艺;乙酸乙酯对茶多酚有很好的溶解性,被用于纯化工艺。这两种溶剂均不利于人体健康,特别是氯代甲烷对人体伤害更

大<sup>[4,5]</sup>。由于这两中溶剂是在茶多酚生产的后段工艺中使用,成品茶多酚中残留的检测十分必要。目前,我国茶多酚产品中的溶剂残留尚无统一的测定方法和标准,而上世纪九十年代初日本、欧盟等国外公司对茶多酚产品中的溶剂残留已是必检项目。本方法测定茶多酚中的氯仿和乙酸乙酯残留,操作简便,检出限低,测定结果准确,是一种有实际意义的测定方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

HP6890气相色谱(Agilent公司),FD检测器(Agilent公司),HP-3392A,数据处理机,精度万分

收稿日期:2005-3-2

作者简介:黄秋森(1963-),男,工学硕士,从事化学分析教学。

之一的电子天平。正己烷,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  为分析纯; 乙酸乙酯, 氯仿均为分析纯, 重新蒸馏后使用; 沉淀法制备的茶多酚由福州劝业公司提供。乙酸乙酯、氯仿的标准正己烷溶液: 用逐级稀释法配制乙酸乙酯为  $200\text{mg/L}$ , 氯仿为  $300\text{mg/L}$  的正己烷标准溶液。经过稀释和处理用于绘制标准曲线。

### 1.2 色谱条件

$2\text{m} \times 3\text{mm}$  i d 不锈钢柱 (Alltech, USA), 10% 的 PEG-2500 涂于 60-80 目 ChromosorbW/AW 上作为固定相。进样口、色谱柱温度均为  $150^\circ\text{C}$ , 检测器温度为  $350^\circ\text{C}$ , 载气为高纯氮气 (纯度 99.999%), 流量  $40\text{mL/min}$ , 氢气流量  $50\text{mL/min}$ , 空气流量  $400\text{mL/min}$ , 进样量  $3\mu\text{L}$ 。

### 1.3 标准曲线绘制

称取五份由沉淀法制备的茶多酚各  $2\text{g}$ , 分别用  $10\text{mL}$  蒸馏水完全溶解后, 转移至 5 个  $60\text{mL}$  的分液漏斗中, 加  $1\text{mol/L}$  的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$   $1\text{mL}$ , 混匀, 分别准确加入含氯仿和乙酸乙酯为  $5.0\mu\text{g/g}$ ,  $7.5\mu\text{g/g}$ ,  $20.0\mu\text{g/g}$ ,  $30.0\mu\text{g/g}$ ,  $40.0\mu\text{g/g}$ ,  $60.0\mu\text{g/g}$ ,  $60.0\mu\text{g/g}$ ,  $90.0\mu\text{g/g}$ ,  $80.0\mu\text{g/g}$ ,  $120.0\mu\text{g/g}$  正己烷标准溶液  $10.00\text{mL}$ , 萃取 30 分钟, 静置 30 分钟分层。分别取上层液  $3\mu\text{L}$  在上述色谱条件下直接进样测定。以峰高  $H$  对含量  $C$  作图, 得到氯仿的回归方程为  $H_1 = 0.7652C_1 + 0.2083$ ,  $r = 0.9951$ ; 乙酸乙酯的回归方程为  $H_2 = 0.9255C_2 + 0.026$ ,  $r = 0.9995$ 。

### 1.4 样品处理

准确称取  $2\text{g}$  样品茶多酚用  $10\text{mL}$  蒸馏水溶解并完全转移至  $60\text{mL}$  的分液漏斗中, 加  $1\text{mol/L}$  的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$   $1\text{mL}$ , 准确加入  $10.00\text{mL}$  的正己烷溶液, 萃取  $30\text{min}$ , 静置 30 分钟分层, 取  $3\mu\text{L}$  的上层液注入气相色谱仪测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 萃取剂与萃取次数的选择

所选用的萃取剂不得与水互溶, 也不能溶解茶多酚, 但要最大限度地从水相中提取氯仿和乙酸乙酯。同过对比正己烷、石油醚、甲苯等萃取效果, 最后选择正己烷为萃取剂。通过在茶多酚的水溶液中加入  $200\mu\text{g/g}$  的氯仿和  $300\mu\text{g/g}$  的乙酸乙酯再

用正己烷做连续萃取试验, 第二次萃取的正己烷层液与空白正己烷的色谱图完全一样, 表明一次萃取已把溶液中的氯仿和乙酸乙酯提取完全。

### 2.2 检测器温度的选择

由于氯仿的可燃性较差<sup>[6]</sup>, 选择高于  $330^\circ\text{C}$  的检测器温度有利于提高氯仿的测定灵敏度。本实验中选择  $350^\circ\text{C}$ 。

### 2.3 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 的作用

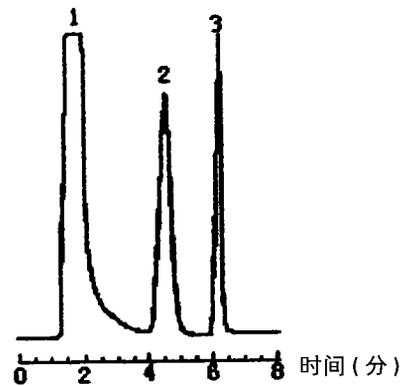
本实验运用了碳酸钠的碱性增加茶多酚的水溶性, 使得缔合在多酚表面的溶剂残留物更容易被萃取到正己烷中, 提高测定的灵敏度。

### 2.4 沉淀法制备的茶多酚的作用

沉淀法制备茶多酚工艺中没有使用有机溶剂, 因此, 其成品茶多酚中不含氯仿和乙酸乙酯。用含氯仿和乙酸乙酯的正己烷标准溶液萃取沉淀法制备的茶多酚水溶液后进样绘制标准曲线, 实验条件与样品测定条件更加接近。

### 2.5 分离效果

绘制标准曲线的标准溶液的色谱分离效果好。如下图所示。



标准液的色谱图 1.  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$   
2.  $\text{CHCl}_3$  3.  $\text{CH}_3\text{COOCH}_3$

### 2.6 线性范围和检测限

按绘制标准曲线的测定方法, 用含氯仿和乙酸乙酯的正己烷系列溶液试验, 结果表明: 氯仿含量在  $0 - 200\mu\text{g/g}$  范围内线性良好,  $r = 0.9951$ ; 乙酸乙酯含量在  $0 - 250\mu\text{g/g}$  范围内线性良好,  $r = 0.9995$ 。当信噪比为 5:1 时, 测得最低检出限: 氯仿为  $0.50\mu\text{g/g}$ , 乙酸乙酯为  $0.36\mu\text{g/g}$ 。

### 2.7 精密度与回收率

(下转第 2172 页)

心沉降程序进行离心沉降测试,离心沉降操作约 30 分钟,每个样品测试时间约 1 小时。SKC - 2000 粒度仪测试样品的时间偏长,但测得平均粒径数据准确性高,再现性好。

### 2.2.2 JL - 1155 粒度仪操作方法

开启机器,预热 10 分钟,样品池内加入约 1/2 体积的蒸馏水,将大约 1g 左右的发泡剂 ADC 放入样品池中,加入 2ml 10% (v/v) OP (非离子表面活性剂),开启超声波分散 30 秒,再开动搅拌 20 秒,开动循环泵,点击电脑专用软件测试,电脑即显示结果。每个样品测试时间约 5 分钟,可达到快速测试。但所测平均粒径再现性较差。

### 2.3 试验数据及分析

选择 5 个比较有代表性的发泡剂 ADC 细度系列产品,按上述操作方法分别在两台不同的粒度测试仪中进行粒度测试,数据如表 1:

表 1 发泡剂 ADC 在不同粒度仪中测得的平均粒径

发泡剂 ADC 样品编号	累积 50% 粒径 (平均粒径)				
	1#	2#	3#	4#	5#
JL - 1155 粒度仪测试值 ( $\mu\text{m}$ )	15.7	19.3	20.5	21.7	23.3
SKC - 2000 粒度仪测试值 ( $\mu\text{m}$ )	7.5	11.0	12.3	13.8	15.2
值 ( $\mu\text{m}$ )	8.2	8.3	8.2	7.9	8.1

表 1 中 值为 JL - 1155 粒度仪测试值减去 SKC - 2000 粒度仪测试值。两台粒度仪测试平均粒径偏差值约  $8\mu\text{m}$ 。通过试验,我们找到两台粒度仪平均粒径的偏差值,可实现两台粒度仪平均粒径

测试值相互转换。

## 3 结语

(1) 使用 SKC - 2000 粒度仪与 JL - 1155 粒度仪测定发泡剂 ADC 平均粒径,两台粒度仪的平均粒径测试值之差为  $8\mu\text{m}$ 。我们认为 SKC - 2000 粒度仪测试值稳定可靠,再现性好,发泡剂 ADC 细度系列品种的平均粒径以 SKC - 2000 粒度仪测试值为准。JL - 1155 粒度仪检测速度快,其测试值可通过数据转换换算成 SKC - 2000 粒度仪测试值。

(2) 在接受发泡剂 ADC 细度系列产品的订单时,需弄清楚客户要求的平均粒径是何种仪器测试值,或要求客户提供少量最适合他们产品使用的发泡剂 ADC 样品,通过 SKC - 2000 粒度仪测定其平均粒径,正确指导发泡剂 ADC 车间通过调整细度调节剂用量 (5) 生产客户满意的发泡剂 ADC 细度系列产品。

## 参考文献

- [1] (英) T·艾伦著,喇华璞等译:颗粒大小测定,北京:中国建筑工业出版社 1984 376
- [2] 陈秀法等,激光粒度分析与传统粒度分析方法相关对比,青岛海洋大学学报 32(4) 608
- [3] 刘华等,偶氮二甲酰胺改性品种的开发及应用,福建化工 2004(2) 45.

(上接第 2174 页) 在用沉淀法生产的茶多酚中加入一定量的氯仿和乙酸乙酯,混和均匀,按样品测定方法平行测定 6 次,作精密度实验。氯仿测定平均值为  $12.5\mu\text{g/g}$ ,相对标准偏差为 3.5%;乙酸乙酯测定平均值为  $32.6\mu\text{g/g}$ ,相对标准偏差为 1.7%。在已测得结果的 3 个试样中,进行加标试验,氯仿的回收率为 96.7% - 104.3%;乙酸乙酯的回收率为 98.5% - 103.6%。

### 2.8 试样检测

测定了三个厂家的茶多酚产品,均有检出乙酸乙酯残留,残留量分别为  $5.2\mu\text{g/g}$   $13.6\mu\text{g/g}$   $17.5\mu\text{g/g}$ ;其中两个厂家的茶多酚检出氯仿残留,残留

量分别  $1.1\mu\text{g/g}$ ,  $5.5\mu\text{g/g}$

## 参考文献

- [1] 黄圣基,万青 茶多酚的制备及其在食品工业中的应用,食品研究与开发,1996,17(1),25 - 28
- [2] 陈为钧,万圣勤 茶多酚药效研究概况,中草药,1993,24(9),493 - 499.
- [3] 陶荣达,茶多酚的制备和应用研究的进展,化学世界,1997,2,64 - 67.
- [4] 周恒铎,职业中毒检验,人民卫生出版社,1976,593,600.
- [5] GB4118 - 92