

# 茶叶中多酚类物质的高效液相色谱分离测试

罗世榕 薛佳

(福州市工业科研所, 福建 福州 350001)

**摘要:** 应用氰基柱, 高效液相色谱法分离茶叶中 Gallic acid、咖啡因、EGC、EC、EGCG、ECG, 探讨各种因素对分离的影响及咖啡因、EGCG定量分析。

**关键词:** 高效液相色谱; 氰基柱; 茶多酚; 咖啡因

## Isolation and Determination of Polyphenols in Tea Extract by High Performance liquid Chromatography

Luo Shirong XueJia

(Fuzhou Industrial Institute, Fuzhou 350001, China)

**Abstract:** A method to isolate Gallic acid, caffeine, EGC, EC, EGCG and ECG from tea extract by CN column and high performance liquid chromatography (HPLC) is developed, and the influence of factors on the isolation is discussed. It is suitable in the quantitative analysis of caffeine and EGCG.

**Keywords:** High performance liquid chromatography; CN column; tea polyphenol; caffeine

### 1 前言

茶叶含大量的多酚类抗氧化剂和咖啡因, 广泛应用于食品、医药等领域。其中 EGCG有良好的抗癌作用, 具有极高的药用价值。咖啡因是一种兴奋剂, 对人的大脑有不良作用, 特别对成长中的儿童有很大影响, 发达国家对它在儿童饮料中的含量有极严格的控制。因此对它们的分离、制备与定量分析就显得十分必要。高效液相色谱仪是分离有机大分子化合物的一种最佳设备。我们通过对色谱柱、流动相等条件的选择, 使它发挥最佳分离效果。

### 2 试验部分

#### 2.1 仪器

岛津 LC-6A 高效液相色谱仪、SL-6A 自动进样器、SCL-6A 控制器、SPD-6AV 紫外可见光检测器, 上海分析仪器厂 PH 计。

#### 2.2 试剂

甲醇 (色谱纯)、乙酸 (AR)、DMF (AR)、水 (双蒸)、标样: Gallic acid、Caffeine、EGC、EC、EGCG、

ECG (来自 Aldrich Chemical company, Inc.)

#### 2.3 色谱条件

shim-pack clc - CN 0.15m  $\times$  6.0mm; 检测波长 280nm; 流动相: A 水: 甲醇: 乙酸: DMF = 76: 3: 5: 16 (V/V), B 水: 乙酸 = 97: 3 (V/V)。

A: FLOW = 0.2ml  $\xrightarrow{20 \text{ min}}$  1ml  $\xrightarrow{5 \text{ min}}$  1ml

B: FLOW = 0.6ml  $\xrightarrow{25 \text{ min}}$  0.6ml

#### 2.4 样品的制备

取 5g 茶粉放入烧杯, 加 60~70 热水 30ml 保温浸泡 15 分钟, 过滤。反复提取 3 次, 滤液合并定容 100ml, 取 3ul 进样。

#### 2.5 标准液的配制

取 Gallic acid、Caffeine 各 0.01g 和 EGC、EC、EGCG、ECG 各 0.1g 于 100ml 容量瓶中, 加蒸馏水定容。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 色谱分离

由于茶多酚极性较强因此选择 ODS 柱和氰基柱

(带有极性基团与被测物有较强的相互作用,提高选择性)做反相色谱,经比较氰基柱分离效果好;分析时间短。酸碱对 Gallic acid、Caffeine 出峰时间和分离影响较大。DMF 的加入使 EC、EGCG 得到良好分离。

### 3.2 定量分析实验

#### 3.2.1 线性回归方程

取 Caffeine 和 EGCG 标样,并用蒸馏水配制成含 0.01mg/ml Caffeine、0.1mg/1ml EGCG 的混合样品,取 2、4、8、16、32 $\mu$ l 分别进样分析,同一进样量分析 5 次,取其平均值。以峰面积为纵坐标 (S),进样量为横坐标 (C) 绘制标准曲线,并进行回归计算。将混合样品稀释 50 倍取 5 $\mu$ l 进样,做最低检测限试验,结果见表 1。

表 1 线性回归方程

被测物	回归方程	相关系数	线性范围
Caffeine	$S = 2645586C + 12.43$	0.9986	0.001 ~ 0.32 $\mu$ g
EGCG	$S = 272020C + 2.36$	0.9998	0.01 ~ 3.2 $\mu$ g

#### 3.2.2 精密度和加标回收率

取一样品连续进样 5 次,然后计算 Caffeine 和 EGCG 的量求相对标准偏差。计算结果相对标准偏差 < 5%,有良好的精密度,具体见表 2

表 2 平行样品测定结果

被测物	测定值					平均值	相对标准偏差 (%)
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>		
Caffeine	0.1625	0.1601	0.1636	0.1672	0.1583	0.1623	2.1
EGCG	0.6907	0.6782	0.6786	0.6414	0.6539	0.6686	3.03

对不同已知样品加一定量的标样进行测试,并计算 Caffeine 和 EGCG 回收率,结果满足分析要求,见表 3。

表 3 加标回收率测定结果

被测物	本底	加入量	测定值	回收率 (%)	
Caffeine	1	0.0281	0.1	0.1209	94.38
	2	0.1639	0.1	0.2527	95.76
EGCG	1	0.6827	0.5	1.1283	95.40
	2	1.2463	0.5	1.7001	97.35

#### 3.2.3 样品分析

按 2 中的方法对不同茶叶和提取物做分析测试,从色谱图看,各组分之间有良好的分离;Caffeine 和 EGCG 有较好的峰形,满足定量分析要求。图 1 为提取出 Caffeine 的茶多酚样品的色谱图。

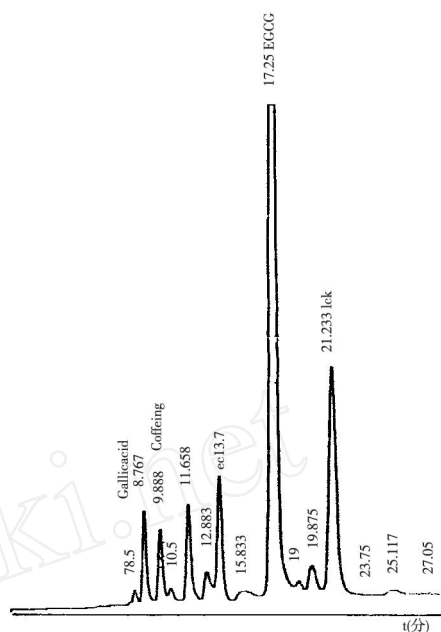


图 1 caffeine 的茶多酚样品的色谱图

## 4 结束语

色谱的定性、定量的准确性取决于分离的好坏,梯度洗脱能取得较好分离效果,但较麻烦(每次进样都要使柱内浓度梯度一致),有待改进。不同厂家的柱子(同一类型)分离条件会有所变化。茶多酚易氧化,应避光保存。洗脱液中 DMF 时间长了会有部分分解,最好现用现配。因对 Gallic acid、EGC、EC、ECG 的应用较少,所以定量工作没做。

## 参考文献

- [1] Sanderson G. w. Structure and Function Aspects of Phytochemistry[M]. 1992a, 247 - 316
- [2] 张可钦. 由中国茶叶中提取抗氧化剂的研究[J]. 食品与发酵工业, 1991, (1): 1 - 10
- [3] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1980: 6 - 71.
- [4] 李霄, 侯彩云. 茶多酚新型检测方法的试验研究[J]. 食品科技, 2004, (10): 80 - 81.
- [5] 叶瑞洪, 张爱琴. 高效毛细管电泳法分离儿茶素组分[J]. 理化检验: 化学分册, 2002, 38 (5): 253 - 253
- [6] 汪兴平, 张家年等. 茶叶有效成分复合分离提取技术研究[J]. 农业工程学报, 2002, 18 (6): 131 - 136