

高效液相色谱法测定茶叶中的茶多酚

摘要： 本文采用高效液相法，应用 L-3000 高效液相色谱系统建立了茶叶提取物中茶多酚的分析分离方法，取得了理想的分离效果。实验证明该方法前处理简便，分析结果准确度高，精密度好，非常适合用于测定绿茶提取物中的茶多酚。

一、引言

茶多酚是一类存在于茶树中的多羟基酚类化合物的简称，尤以茶叶中含量最高，干茶叶中含茶多酚在 30%左右。茶多酚主要包括儿茶素类（黄烷酮类），黄酮，黄酮醇类，花青素类，花白素类和酚酸及缩酚酸类。其中儿茶素类是茶多酚的主体组分，约占茶多酚总量的 90%左右。

茶多酚是茶叶中最具生物活性的成份，尤其其中的主要组分儿茶素。研究证实儿茶素具有良好的抗氧化能力，同时具有抗肿瘤，抗诱变，预防龋齿等功效。因此儿茶素日益受到人们重视，成为一类重要的食品添加剂和药物成分。

在茶多酚的色谱分析方法中，反相 HPLC 法是目前普遍使用，技术最为成熟的方法。本文应用北京普源精仪科技有限责任公司自主研发的 RIGOL L-3000 高效液相色谱仪建立了绿茶提取物中茶多酚的分离分析方法。实验证明该方法分离效果好，分析准确度高，重现性好。同时，RIGOL L-3000 高效液相色谱仪非常适用于绿茶提取物中茶多酚的分离分析工作。

二、实验部分

2.1 仪器及试剂

高效液相色谱仪：RIGOL L-3000 高效液相色谱系统（配 L-3300 自动进样器）（北京普源精仪科技有限责任公司）；

超纯水纯化系统：milli-Q（美国Millipore）；

天平：BT 124S （德国塞多利斯）；

粉碎机：天津泰斯特 FW80；

酸度计：PHSJ-4A（上海雷磁）；

移液枪： 10-100 μ l，100-1,000 μ l（eppendorf）；

绿茶提取物：某天然产物公司；

其余试剂均为市售 HPLC 级或分析纯。

2.2 色谱条件

色谱柱：Rigol: Compass , C18, 5 μ m, 4.6 x 250mm id,

柱 温：35℃；

进样量：10 μ L；

流动相：A：乙腈：水：TFA溶液 B：乙腈：水溶液，采用梯度洗脱

梯度方法：

| 时间 (min) | A% | B% |
|----------|---------|-------|
| 0 | 100 | 0 |
| 20 | 100--25 | 0--75 |

| | | |
|------|-----|----|
| 25 | 25 | 75 |
| 25.1 | 100 | 0 |
| 30 | 100 | 0 |

流速：1.0ml/min
检测波长：280 nm

2.3 试样准备

2.3.1 样品溶液的制备

精密称取绿茶提取物（从绿茶中经过一系列工业提取纯化制得）约 23mg，置于 10 ml 容量瓶中，加 80%乙醇溶解，超声提取 20 min，加 80%乙醇定容，以 0.45 μm 微孔滤膜滤过，滤液作为样品供试液备用。

2.4 实验方法

2.4.1 样品测试

在选定的色谱条件下以样品供试液进样，进样量 10 μl。

三、结果及讨论

3.1 样品的分离

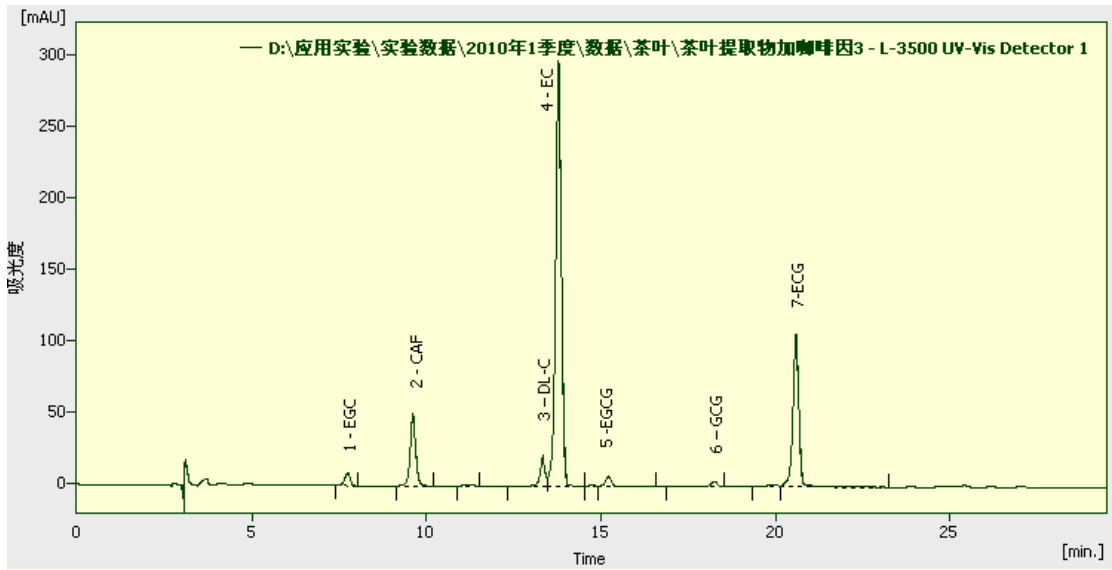


图 1 绿茶提取物样品的色谱分离图

1 - EGC ; 2 - CAF ; 3 - DL-C ; 4 - EC ; 5 -EGCG ; 6 - GCG; 7-ECG

3.2 精密度实验

取茶叶提取物供试溶液连续进样 6 次，进样量 10μl。根据测定结果, 计算保留时间及峰面积的 RSD（相对标准偏差），得到如下结果：

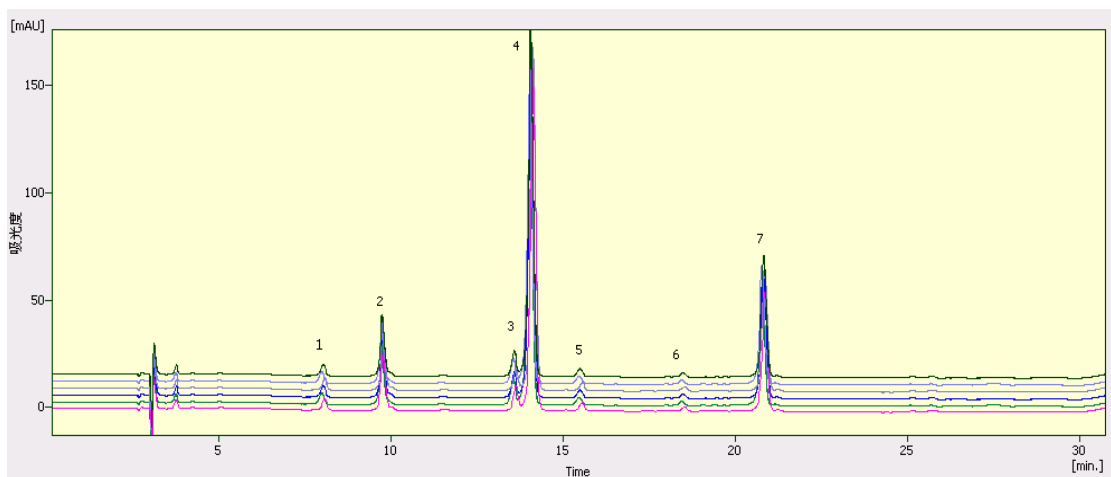


图 2 样品重复性实验谱图

表 1 精密度实验结果

| 化合物 | 定性重复性RSD% | 定量重复性RSD% |
|------|-----------|-----------|
| EGC | 0.2213 | 0.5687 |
| CAF | 0.1899 | 0.8121 |
| DL-C | 0.2354 | 0.7847 |
| EC; | 0.6101 | 1.2534 |
| EGCG | 0.2714 | 0.9165 |
| GCG | 0.3112 | 1.0211 |
| ECG | 0.2415 | 0.8741 |

以上实验结果该方法可将绿茶提取物中茶多酚的多种成分分离开，定性定量重复性好。

3.3 流动相的选择实验

流动相的选择实验发现，茶叶成分的分析多采用梯度洗脱，其调节酸碱度的试剂多种多样，可以用醋酸、磷酸、DMF、TFA 等，分析时间从 10 几分钟到 1 个小时不等。本实验先采用磷酸盐做流动相分析，出峰少且峰型不理想，后改用 TFA，得到的峰型对称性比较好。此外，文献采用的梯度方法是 A 相在 17 分钟内由 100%变化到 25%，采用这一方法实际的结果显示，DL-C 和 EC 分离效果不理想，调整了梯度方法后，这一问题得到了解决。

四、结论

应用RIGOL L-3000高效液相色谱仪，采用本文的方法进行绿茶提取物中茶多酚活性物质的分离分析实验，结果准确，重现性好。该仪器与方法结合，可充分满足绿茶提取物产品质量控制的实验要求。