

沱茶中茶多酚的分析与鉴定

回瑞华, 侯冬岩, 关崇新, 刘晓媛

(鞍山师范学院化学系, 辽宁 鞍山 114005)

摘要:用索氏提取器以三氯甲烷为萃取剂, 在 95 °C 下从沱茶中提取茶多酚。用旋转蒸发器将滤液浓缩, 有机相中加入三氯甲烷 ($V(\text{三氯甲烷}) : V(\text{浓缩液}) = 3 : 1$) 将咖啡因萃取分离、去除。水相中加入乙酸乙酯 ($V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{水}) = 3 : 1$) 将沱茶提取物萃取分离。以硅胶 G 作填充剂, 以乙酸乙酯 ($V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{乙醚}) = 4 : 1$) 为洗脱剂进行柱层析。用傅里立变换-红外光谱法 (FT/IR) 测定沱茶提取物待测组分的红外光谱图, 提供官能团的有关信息, 确定待测组分的可能结构; 应用气相色谱-质谱法 (GC/MS) 对其进行分析与鉴定, 由电子电离源质谱 (EI/MS) 获得待测组分的质谱图和相关数据, 进而对子离子裂解途径和特征离子进行辅助解析, 确证待测组分为茶多酚。为开发利用沱茶提供了科学依据。

关键词:质谱学; 茶多酚分析; 气相色谱-质谱法 (GC/MS); 沱茶; 裂解途径

中图分类号: O657.63; T6272.54 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2004)01-42-03

Identification of Catechin in Tuo Tea

HUI Rui-hua, HOU Dong-yan, GUAN Chung-xin, LIOU Xiao-yuan

(Department of Chemistry, Anshan Normal University, Anshan 114005, China)

Abstract: Catechin was extracted and isolated from Tuo tea using S-extractor with trichloromethane as extractant at temperature of 95 °C. The filtrate was concentrated by circum-evaporator, and caffeine in the filtrate was removed with methenyl chloride ($V(\text{methenyl chloride}) : V(\text{concentrated solution}) = 3 : 1$) as extractant. Then, the water phase was extracted further by adding ethyl acetate ($V(\text{ethyl acetate}) : V(\text{water}) = 3 : 1$) to get catechin extract. The column chromatography separation was performed with ethyl acetate ($V(\text{ethyl acetate}) : V(\text{ethyle ether}) = 4 : 1$) as eluent and silica gel G as absorbent. The infrared spectrum of the potential structure of the extract of the Catechin was obtained by fourier transform/infrared spectrometry (FT/IR) with liquid film method, and many functional groups can be assigned by their characteristic vibration frequency. The mass spectrum was obtained by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) and Catechin was identified by proposal fragmentation patterns of fragment ions m/z 152, m/z 139, m/z 124, m/z 123 and prominent ions. The study can help to offer the scientific basis for developing and utilizing Catechin.

Key words: mass spectrometry, identification of Catechin; gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS); Tuo tea; fragmentation pattern

收稿日期: 2002-12-10; 修回日期: 2003-05-10

基金项目: 辽宁教育厅科学技术基金资助课题 (20331079)

作者简介: 回瑞华 (1945~), 女 (回族), 辽宁海城人, 教授, 分析化学专业, E-mail: huiyulin@online.ln.cn

茶多酚(Catechin)是茶叶生物活性成分中的一类重要的化合物,具有很强的抗氧化能力,其抗氧化能力可达L-抗坏血酸的100倍。现代科学研究认为,人体衰老的原因在于人体的细胞在代谢过程中连续不断地产生具有高度活性的自由基和细胞自身的抗氧化酶,即谷胱甘肽-氧化酶(GSH-PX)和超氧化物歧化酶(SOD)不断消除代谢作用的失衡,使自由基浓度过剩。人体内的自由基是一些强氧化性的物质,自由基及其诱导的氧化反应会引起膜脂的氧化损伤和交联键的形成,其结果降低了GSH-PX和SOD两种酶的活性,使核酸代谢受到影响,促使溶酶体内衰老色素和脂褐素堆积,致使细胞衰老。茶多酚具有很强的清除人体自由基的作用,当L-表没食子儿茶素没食子酸酯(L-EGCG)的浓度为0.006 g/L时,对超氧自由基的消除率达到98%;当L-EGCG的浓度为0.10 g/L时,对羟基自由基的消除率达到99.9%。因此,茶多酚是极强的消除有害自由基的天然物质。茶叶中含有丰富的茶多酚,因而引起国内外有关专家的关注,已有相关研究进行了报道^[1]。近期研究表明,茶多酚还对消化系统的胃癌、大肠癌细胞有抑制和杀灭作用^[2]。本工作拟采用傅里叶变换-红外光谱法(FT/IR)和气相色谱-质谱法(GC/MS)分析鉴定茶多酚,为开发利用沱茶提供科学依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

Magna550型傅里叶变换-红外光谱仪:美国尼高力仪器公司产品;HP5988型气相色谱/质谱联用仪:美国惠普公司产品;RE52CS型旋转蒸发仪:上海亚荣生化仪器厂产品;HHS21-4型电热恒温水浴锅:上海医疗器械五厂产品;2XZ-4型旋片式真空泵:临海市精工真空设备厂产品;ZHQ型中华牌加热器:巩义市英峪仪器一厂产品;DKW-III型电子节能控温仪:巩义市英峪仪器一厂产品。

1.2 主要材料

沱茶:优质茶叶,产自云南下关茶厂。

2 实验方法

2.1 茶多酚的提取、分离

取75 g沱茶放入索氏提取器的1000 mL圆底烧瓶中,加入500 mL水,在95℃下提取40 min。沙布过滤,滤液用旋转蒸发器浓缩至固体物含量40%~45%,将三氯甲烷(V(三氯甲烷):V(浓缩液)=3:1)加入浓缩液中,将其中的咖啡因转入三氯甲烷有机相中萃取分离,除去。水相中加乙酸乙酯(V(乙酸乙酯):V(水)=3:1),将沱茶提取物转入到乙酸乙酯相中萃取分离,真空浓缩得棕黄色浸膏。再以硅胶G作填充剂,以V(乙酸乙酯):V(乙醚)=4:1为洗脱剂进行柱层析^[3],收集黄色组分待测。

2.2 红外光谱测定

取提取分离的待测组分进行红外光谱测定,测定结果示于图1。

2.3 GC/MS测定

取提取分离的待测组分直接进样进行GC/MS质谱分析,结果示于图2。

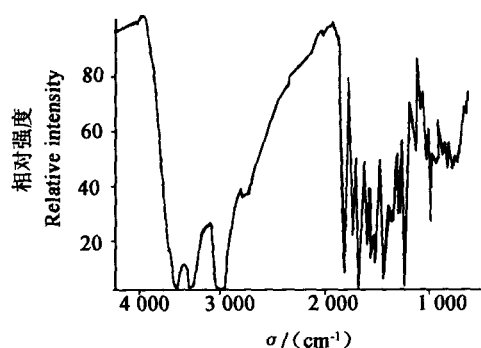


图1 待测组分的红外光谱

Fig.1 Infrared spectrum of measured component

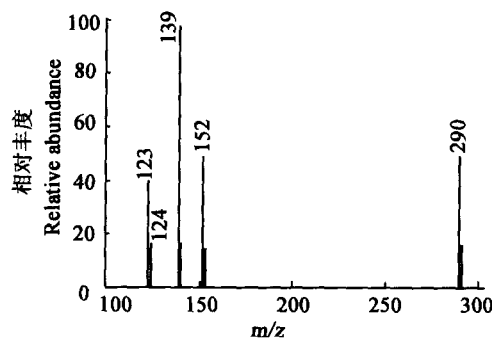


图2 待测组分的质谱图

Fig.2 Mass spectrum of measured component

3 结果与讨论

3.1 结构确定

由图1可知, $3450\sim 2850\text{ cm}^{-1}$ 有强宽的吸收峰为 $\nu_{\text{O-H}}$, 而且说明形成了分子内氢键; $1630\sim 1510\text{ cm}^{-1}$ 为苯环上 $\nu_{\text{C-C}}$, 而且 $900\sim 650\text{ cm}^{-1}$ 有多个收峰, 说明苯环上有多个取代结构; $1475\sim 1050\text{ cm}^{-1}$ 有多个吸收峰为 $\nu_{\text{C-O}}$, 说明结构中有醚产生的 $\nu_{\text{C-O}}$, 也有醇产生的 $\nu_{\text{C-O}}$, 由IR谱可初步确认此化学组成为茶多酚^[4]。

3.2 裂解途径的推断和分子结构的确认

由图2提供的质谱数据, 可以进一步佐证其分子结构的组成^[5]。

由图2待测组分的质谱图可知, 准分子离子

是 m/z 290, 产生子离子 m/z 152、 m/z 139、 m/z 124 和 m/z 123 的裂解途径示于图3。

由以上 IR、MS 数据确认提取、分离的化合物为茶多酚, 其结构示于图4。

4 结论

由实验结果可知, 沱茶中主要化学组成之一为茶多酚, 其含量高于同一产地的红茶。茶多酚是一种新型的天然食品抗氧化剂, 与抗坏血酸配合时, 其抗氧化性能优良; 茶多酚也具有高效的抗癌、抗衰老、降血脂等一系列的药理功能。因此, 茶多酚的分析与鉴定具有药理探讨和医药应用价值。

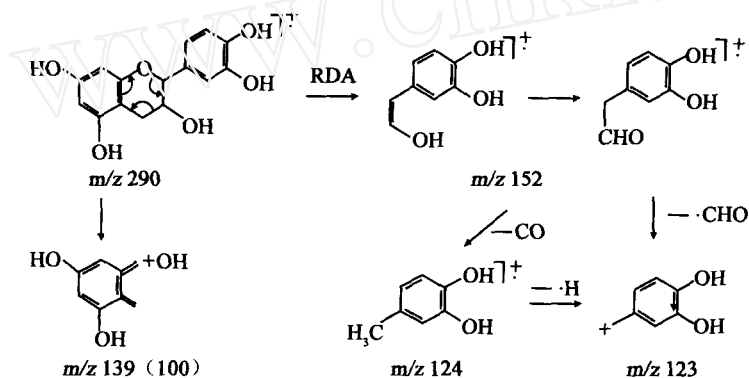


图3 茶多酚裂解途径

Fig. 3 Proposed fragmentation patterns of Catechin

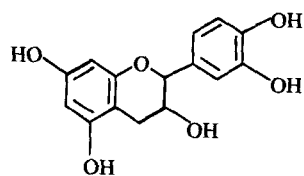


图4 茶多酚的分子结构

Fig. 4 Geometric structure of Catechin

参考文献:

[1] 于新蕊. 茶叶的化学成分及药理作用[J]. 中草药, 1995, 26(4): 219~221.

[2] 赵燕, 曹进, 祝合成. 茶抗消化系统肿瘤的研究进展[J]. 肿瘤, 1998, 18(2): 121~122.

[3] 回瑞华. 色谱柱中填料颗粒粒度与流动相流速最佳关系的研究[J]. 辽宁大学学报(自然科学版)[J], 1994, 21(3): 81~84.

[4] 回瑞华, 侯冬岩. 近代有机仪器分析[M]. 长春: 吉林大学出版社, 1995.

[5] Hellen SR, Milne G WA. EPA/NIH Mass spectral Database[M]. Washington: US Government Printing Office, 1978, 1~4.