

RP-HPLC 法测定茶叶中绿原酸和没食子酸含量的研究

黄宏伟, 邹佑云, 邹盛勤*

(1. 宜春学院化学与生物工程学院, 江西宜春 336000; 2. 宜春学院美容医学院, 江西宜春 336000; 3. 江西省天然药物活性成分研究重点实验室, 宜春学院生物工程研究所, 江西宜春 336000)

摘要 在建立反相高效液相色谱法的同时, 测定不同产地茶叶中没食子酸和绿原酸的含量。结果表明: 当绿原酸进样量 0.092 ~ 0.92 μg , 没食子酸进样量 0.075 6 ~ 0.756 0 μg 时, 回归方程具有良好的线性关系; 该方法准确、快速、重现性好, 可用于茶叶中没食子酸和绿原酸含量的测定; 5 个不同产地的茶叶中没食子酸和绿原酸含量有明显差异。

关键词 茶叶; 绿原酸; 没食子酸; 高效液相色谱; 光电二极管阵列检测器

中图分类号 O657.7+2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)25-07752-02

Determination of Chlorogenic Acid and Gallic Acid in Tea by RP-HPLC

HUANG Hongwei et al (College of Chemistry and Bioengineering of Yichun University, Yichun, Jiangxi 336000)

Abstract A RP-HPLC method for determination of chlorogenic acid and gallic acid in tea from different regions was established. The results showed that the linear range of chlorogenic acid was 0.092 ~ 0.92 μg , and the linear range of gallic acid was 0.075 6 ~ 0.756 0 μg . The method was accurate, rapid, reproducible and suitable for determination of chlorogenic acid and gallic acid in tea. There were significant differences in the contents of chlorogenic acid and gallic acid in tea from five regions.

Key words Tea; Chlorogenic acid; Gallic acid; HPLC; Photodiode array detector

茶叶 (*Camellia sinensis*) 是山茶科 (Theaceae) 植物茶的芽叶, 自古就为养生药用之上品, 具有提神、养生的药效。茶叶原产于我国云南原始森林。由于自然和人工的传播, 茶叶栽种区域已遍及温带、亚热带和热带, 已在 30 多个国家和地区栽种。茶现是世界三大软饮料之一^[1]。茶叶的主要成分为糖类、蛋白质、咖啡碱、鞣酸、维生素 C, 也含有一定量的酚酸类成分^[2]。绿原酸和没食子酸即为其中的两种。绿原酸具有灭菌解毒、消炎利胆的功效^[3], 临床上用于治疗急性细菌感染等引起的疾病, 可止血、增加白血球、抗病毒、缩短血凝和止血时间等作用^[4]。没食子酸具有强抗氧化性, 并且具有抗肿瘤、抗血栓等药理作用, 在食品工业及医药工业中有广泛用途和应用前景^[5]。但是, 采用高效液相色谱法测定绿原酸和没食子酸含量的方法未见文献报道。为此, 笔者采用反相高效液相色谱法测定了市场上 5 种绿茶中绿原酸和没食子酸的含量, 旨在为茶叶的质量评价及其药用成分的开发利用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 仪器 Waters 515 双泵型高效液相色谱仪, 2996 光电二极管检测器 (PAD), 7725I 手动进样器, Empower 色谱工作站 (美国 Waters 公司), UPVS-I-10T 超纯水器 (杭州永洁净化科技有限公司), CP225D 双量程电子分析天平 (德国 Sartorius 公司), SK2510HP 超声波提取器 (上海科导超声仪器公司)。

1.2 试剂 95% 乙醇, 分析纯, 江西洪都生物化学有限公司生产; 甲醇, 色谱纯, 江苏汉邦科技有限公司生产; 磷酸, 分析纯, 上海市试剂一厂综合经营公司生产; 绿原酸、没食子酸对照品, 中国药品生物制品检定所生产, 批号分别为 110831-200302、110753-200413, 供含量测定用。茶叶均为市售, 经鉴定均为山茶科植物茶的干燥芽叶。

1.3 溶液的制备

1.3.1 对照品溶液的制备。 准确称取没食子酸对照品

2.30 ng、绿原酸对照品 1.89 ng, 置于 5 ml 棕色容量瓶中, 加入甲醇, 超声溶解, 定容, 得到含没食子酸 0.460 ng/ml 和绿原酸 0.378 ng/ml 的对照品溶液。

1.3.2 样品溶液的制备。 将 5 种茶叶样品置于烘箱中, 在 80 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥 5 h, 冷却后粉碎, 过 80 目筛。称取茶叶粉末约 3 g, 置于 50 ml 锥形瓶中, 加入 50% 乙醇, 摇匀, 室温下浸渍 1 h, 超声提取 (功率 250 W) 1 h, 过滤, 滤渣用适量乙醇洗涤 2 次, 合并滤液于 50 ml 容量瓶中, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 弃去初滤液, 取续滤液作为样品溶液。

2 结果与分析

2.1 检测波长的选择 取绿原酸和没食子酸对照品混合溶液进样, 使用 PAD 检测器进行三维扫描, 提取 200 ~ 600 nm 波长范围内两个组分的紫外吸收光谱。流动相中绿原酸最大吸收波长分别为 217.5 和 327.5 nm, 没食子酸最大吸收波长分别为 216.3 和 357.4 nm。提取各波长下色谱进行比较, 选择 310 nm 作为检测波长, 发现基线平稳、峰形好。绿原酸和没食子酸对照品的紫外吸收光谱见图 1。

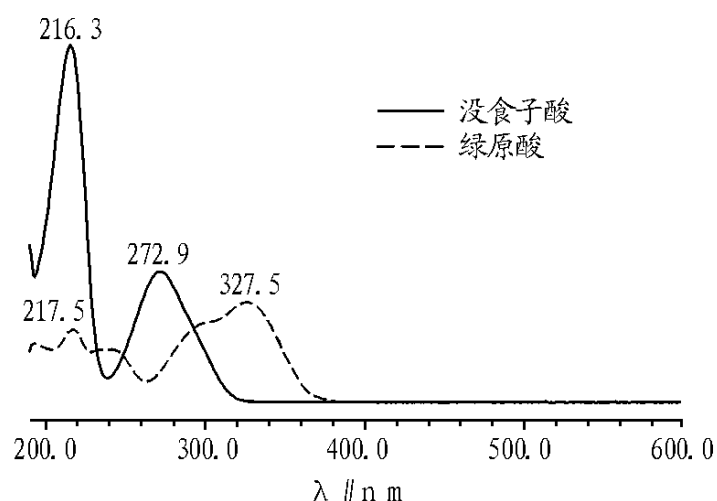


图1 没食子酸和绿原酸对照品的紫外吸收光谱

2.2 色谱条件 色谱柱为 Nucleodur C₁₈ 分析柱 (5 μm , 4.6 mm \times 250 mm); 流动相为甲醇 0.05% 磷酸水溶液 (体积比 30:70); 流速 0.80 ml/min; 进样量 10 μl , 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 绿原酸和没食子酸的理论塔板数分别为 2 448 和 6 032, 分离度为 2.68 和 2.03。对照品和样品溶液的 HPLC 色谱分别见图 2 和图 3。

作者简介 黄宏伟 (1972-), 男, 江西万载人, 讲师, 从事药理学教学与研究。* 通讯作者。

收稿日期 2007-05-02

(上接第7730 页)

- [2] 国家标准局.GB/ T 5009.28 - 2003 食品中糖精钠的测定[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [3] 国家标准局.GB/ T 5009.29 - 2003 食品中三梨酸、苯甲酸的测定[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [4] 周毅刚,龙苏,王晓春,等.高效液相法测定食品中苯甲酸和三梨酸含

量[J].中国医师杂志,2001,13(3):184-188.

- [5] 管健,沈永伟.食品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠提取方法探讨[J].中国卫生检验杂志,2005,15(10):1260.
- [6] 卢丽明,周日东,黄诚,等.含乳饮料中苯甲酸、山梨酸、糖精钠测定的样品前处理方法探讨[J].华南预防医学,2005,31(6):43-44.
- [7] 魏明,向仲朝.HPLC测定食品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠的样品前处理[J].食品科技,2006(9):240-241.