

邹盛勤,姜 琼. RP-HPLC 测定茶叶中没食子酸、儿茶素和表儿茶素的含量[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):322-324.

RP-HPLC 测定茶叶中没食子酸、儿茶素和表儿茶素的含量

邹盛勤,姜 琼

(宜春学院化学与生物工程学院/江西省天然药物活性成分研究重点实验室,江西宜春 336000)

摘要:建立了测定茶叶中没食子酸、儿茶素和表儿茶素的反相高效液相色谱分析方法(reverse phase high-performance liquid chromatography, RP-HPLC)。样品经超声提取后,利用 Kromasil C18 色谱柱分离,流动相为乙腈:水:磷酸(90 mL:10 mL:0.1 mL),流速 0.8 mL/min,检测波长 278 nm,柱温 30 ℃。没食子酸进样量在 0.066~1.650 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$),平均回收率为 97.1%,RSD 为 1.1% ($n=6$);儿茶素进样量在 0.240~6.000 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 6$),平均回收率为 97.5%,RSD 为 1.5% ($n=6$);表儿茶素进样量在 0.252~6.300 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 7$),平均回收率为 96.9%,RSD 为 1.2% ($n=6$)。试验结果表明,建立的方法操作简便、数据精确,可用于茶叶中没食子酸、儿茶素和表儿茶素的含量测定。

关键词:茶叶;没食子酸;儿茶素;表儿茶素;RP-HPLC

中图分类号: TS272.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)07-0322-02

茶叶为山茶科山茶属植物茶(*Camellia sinensis*)的芽叶。茶叶一名始载于《名医别录》,“世医治暑病,以茶叶饮为首药”^[1]。茶叶全草可作药用,性微温,具有发汗解暑、行水散湿、温胃调中、利水消肿的功效^[2]。我国拥有丰富的茶叶资源和数千年的茶文化历史。茶叶中具有多种活性成分,如茶多酚、茶多糖、茶皂素、可可碱、咖啡碱、挥发油、氨基酸等,其中多酚类化合物主要由没食子酸、儿茶素、表儿茶素、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯等 30 多种化学物质组成^[3],具有调血脂、降血糖、抗肿瘤、抗衰老、美容减肥等药理作用^[3-5]。茶多酚的定量方法主要有高效液相色谱法和毛细管电泳法等^[6-9]。茶叶化学成分的研究报道较多,但同时测定茶叶样品中没食子酸、儿茶素和表儿茶素含量的方法尚未见报道。本试验建立反相高效液相色谱法(reverse phase high-performance liquid chromatography, RP-HPLC)同时测定浙产茶叶中没食子酸、儿茶素和表儿茶素的含量,旨在为茶叶中没食子酸、儿茶素和表儿茶素的定量分析及其药效基础物质的研究提供依据。

1 材料与与方法

1.1 材料与仪器

没食子酸、表儿茶素和儿茶素对照品(中国药品生物制品检定所,批号为:110831-200302、110877-200916、110831-200911),乙腈(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司),水为超纯水,其余试剂均为分析纯。084 龙井、龙井、白茶、越剑茶和浙农 113 茶叶品种均购自浙江省,经鉴定为茶(*C. sinensis*)的芽叶。

收稿日期:2013-10-28

作者简介:邹盛勤(1970—),男,江西奉新人,硕士,教授,从事天然产物活性成分的提取与分析研究。E-mail:zsqcxy@163.com。

通信作者:姜 琼,男,湖北潜江人,硕士,讲师,从事天然产物开发与研究。E-mail:qqj2000@163.com。

Waters 高效液相色谱仪(515 泵,2996 光电二极管阵列检测器,Empower 中文色谱工作站,美国);RO-MB-10D 高纯水机(杭州永洁达膜分离设备厂);CP225D 电子分析天平(德国 Sartorius 公司);FW100 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);SK2510HP 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司,功率:250W,频率:59 kHz)。

1.2 溶液配制

1.2.1 对照品溶液 分别精确称取 1.32、4.80、5.04 mg 没食子酸、儿茶素和表儿茶素对照品,置于 20 mL 容量瓶中,加适量甲醇溶解后,稀释至刻度,摇匀后配制成含 0.066 mg/mL 没食子酸、0.240 mg/mL 儿茶素和 0.252 mg/mL 表儿茶素的对照品混合溶液。

1.2.2 样品溶液 茶叶样品于恒温干燥箱中 80 ℃下干燥 6 h,高速粉碎机粉碎。分别精确称取 2 g 各茶叶样品粉末,分别置于 50 mL 具塞锥形瓶中,分别加入 50 mL 95% 乙醇后称重;超声提取 45 min,冷却后用甲醇补足损失重量,摇匀后用 0.45 μm 滤膜过滤,取过滤液作为样品溶液。

1.3 检测波长的选择

对照品溶液采用光电二极管阵列检测器在 190~400 nm 波长范围内进行紫外扫描,选择合适的检测波长。

1.4 色谱条件

色谱柱为 Kromasil C18 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相为乙腈:水:磷酸(90 mL:10 mL:0.1 mL);流速 0.8 mL/min;检测波长 278 nm;柱温为 30 ℃。

1.5 精密度试验

分别精确吸取 10 μL 含没食子酸、儿茶素和表儿茶素的对照品混合溶液,平行进样 5 次,以峰面积计算色谱系统精密度。

1.6 重现性试验

取 5 份茶叶样品,每份约 2 g,按“1.2.2 项”中样品溶液制备方法制备样品溶液。精确吸取样品溶液各 10 μL,分别进样,测定其峰面积积分值,用外标法计算含量。

1.7 加样回收率试验

精确称取 6 份已知没食子酸、儿茶素、表儿茶素含量的茶叶样品,每份约 1 g,按高、中、低 3 种浓度分别加入适量对照品制备样品溶液,进样测定含量。

1.8 线性关系试验

用微量注射器精确吸取 1、7、13、20、25 μL 含没食子酸、儿茶素和表儿茶素的对照品混合贮备液,进样分析,按色谱条件测定峰面积,以对照品的进样量为横坐标(μg),峰面积为纵坐标($\mu\text{V} \cdot \text{s}$)。

1.9 样品含量测定

精确吸取制备的样品溶液各 10 μL ,平行进样 3 次,测定没食子酸、儿茶素和表儿茶素峰面积积分值,外标法计算平均含量。

2 结果与分析

2.1 检测波长

试验测得对照品溶液中没食子酸最大吸收波长为 216.3、271.7 nm,儿茶素最大吸收波长为 203.4、278.8 nm,表儿茶素最大吸收波长为 203.4、278.8 nm(图 1)。因此选择 278.0 nm 作为检测波长,此波长下没食子酸、儿茶素和表儿茶素均有较强的紫外吸收,信噪比高,基线平稳。

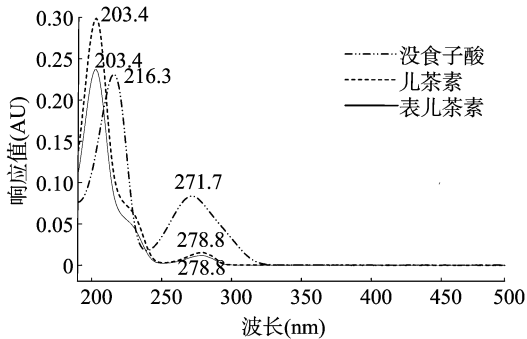


图1 对照品溶液没食子酸、儿茶素和表儿茶素的紫外光谱

2.2 RP-HPLC 检测结果

对照品和样品的 RP-HPLC 检测结果见图 2。以没食子酸、儿茶素和表儿茶素计,理论塔板数均大于 5 000,样品溶液中没食子酸、儿茶素和表儿茶素分离度均大于 2.0,对称因子分别为 0.98、1.02、1.04,用外标法进行定量分析。

2.3 精密度试验结果

结果测得没食子酸、儿茶素、表儿茶素的峰面积 RSD 分别为 0.4% ($n=5$)、0.7% ($n=5$)、0.2% ($n=5$),说明进样方法和仪器精密度良好。

2.4 重现性试验结果

结果测得没食子酸、儿茶素、表儿茶素含量的 RSD 分别为 2.0% ($n=5$)、1.9% ($n=5$)、2.1% ($n=5$),表明样品制备方法重现性良好。

2.5 加样回收率试验结果

没食子酸平均回收率为 97.1%, RSD 为 1.1% ($n=6$),儿茶素平均回收率为 97.5%, RSD 为 1.5% ($n=6$),表儿茶素平均回收率为 96.9%, RSD 为 1.2% ($n=6$)。

2.6 线性关系试验结果

拟合得没食子酸线性回归方程为 $Y_1 = 2.80 \times 10^6 X -$

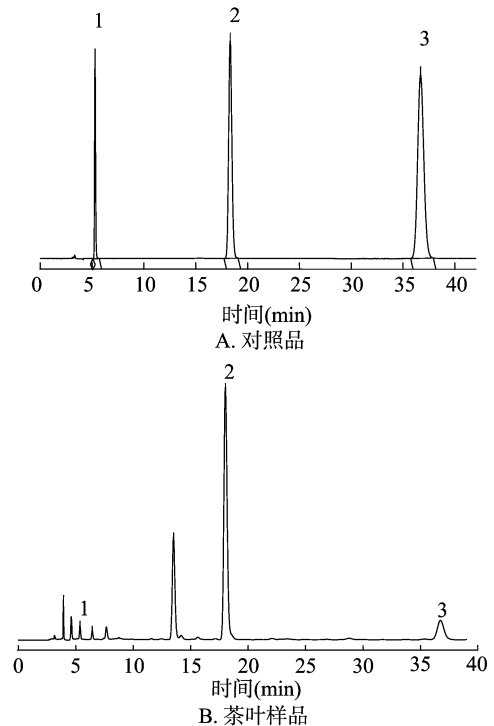


图2 对照品和茶叶样品的RP-HPLC谱图

5.32×10^4 ($r = 0.9999$),儿茶素线性回归方程为 $Y_2 = 7.72 \times 10^6 X - 7.98 \times 10^4$ ($r = 0.9996$),表儿茶素线性回归方程为 $Y_3 = 5.72 \times 10^7 X - 3.34 \times 10^5$ ($r = 0.9997$),表明没食子酸、儿茶素和表儿茶素进样量分别在 0.066 ~ 1.650、0.240 ~ 6.000、0.252 ~ 6.300 μg 时,线性关系良好。

2.7 含量测定结果

由表 1 可以看出,不同茶叶样品中没食子酸含量最高的为 2.84 mg/g,最低的为 0.84 mg/g;儿茶素含量最高的为 6.23 mg/g,最低的为 2.37 mg/g;表儿茶素含量最高的为 4.82 mg/g,最低的为 0.70 mg/g。不同茶叶样品中 3 组分含量均差异较大,同分异构体儿茶素和表儿茶素的含量在不同品种茶叶中差异明显,但同一样品中儿茶素含量均高于表儿茶素,可能与茶叶品种和加工工艺相关。

表 1 浙江产茶叶中没食子酸、儿茶素和表儿茶素的含量测定结果

样品	含量 (mg/g)		
	没食子酸	儿茶素	表儿茶素
084 龙井	2.84	3.08	1.92
龙井	2.52	2.37	0.72
白茶	2.80	5.76	4.82
越剑茶	0.84	4.95	0.70
浙农 113	1.49	6.23	0.85

3 结论

本试验 RP-HPLC 以乙腈-水-磷酸体系作为流动相,在弱酸环境下消除了色谱峰拖尾现象,峰形对称,没食子酸、儿茶素、表儿茶素的对称因子分别为 0.98、1.02、1.04。分析时采用等度洗脱,流动相为乙腈:水:磷酸(90 mL:10 mL:0.1 mL),各个色谱峰分离度较好,没食子酸、儿茶素和表儿茶素分离度均大于 2.0,保留时间适中。没食子酸进样量在 0.066 ~

王海霞,周文婷,林 萍,等. NIRS 在广金钱草水分含量测定中的应用[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):324-326.

NIRS 在广金钱草水分含量测定中的应用

王海霞,周文婷,林 萍,卢慧娟,姬生国

(广东药学院中药学院,广东广州 510006)

摘要:研究并建立近红外光谱技术在广金钱草药材水分含量的测定方法。利用烘干法测定试验样品的水分含量,并采集近红外光谱数据,采用一阶导数法预处理,结合偏最小二乘法建立广金钱草中水分含量的定量分析模型。结果表明:所建立的校正模型,内部交叉验证决定系数达到 0.970,校正均方差为 0.254,预测均方差为 0.278,内部交叉验证均方差为 0.582。验证集重复性标准偏差为 0.069,平均回收率为 99.96%, t 检验显示 $P > 0.05$,精密性及重复性 RSD 分别为 1.23、1.45%, $RPD > 3$ 。建立的广金钱草药材水分含量测定的近红外光谱模型稳定、准确、可靠,适用于对广金钱草药材的水分含量测定。

关键词:广金钱草;含水量;近红外光谱;方法学考察; t -检验

中图分类号:0657.33;R284.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)07-0324-03

广金钱草 [*Desmodium styracifolium* (Osb.) Merr.] 为豆科植物,以干燥地上部分入药,为“十大广药”之一,收载于 2010 年版《中国药典》。广金钱草主产于广西、广东、海南 3 省(区),其性甘,味淡、凉,具有清热利湿、通淋排石之功效。对于广金钱草的质量评价,2010 年版《中国药典》规定了水分、灰分、浸出物及有效成分的含量等要求,其中水分要求不得超过 12%。但药典中水分测定的方法采用的是传统的烘干法,该方法费时费力,比较繁琐。近年来近红外光谱法在中药材水分含量测定中的应用处于起步阶段,该方法较为准确、简便、快速,测定过程中无需对药材进行复杂处理。本课题组长

期以来利用近红外光谱技术对岭南道地药材进行研究,已经运用该技术成功对广陈皮^[1-2]、广藿香^[3-7]及枇杷叶^[8]进行质量评价及定性鉴别。本研究介绍了利用该技术对广金钱草药材中水分含量的测定方法,以期寻找利用近红外光谱技术全面对广金钱草品质的评价方法。

1 材料与方法

1.1 药材

试验所用 110 批样品于 2013 年采集于广东省、海南省及广西壮族自治区,经广东药学院姬生国教授鉴定为豆科山蚂蝗属植物广金钱草。药材经干燥粉碎后过 50 目筛,保存于自封袋中,置于干燥器中备用。

1.2 仪器

傅立叶变换近红外光谱仪(Tensor37 型,Bruker 公司),电热鼓风恒温干燥器(Q/ZT153-1998,浙江正泰仪器仪表有限公司),十万分之一天平(AY120,日本岛津公司)。

收稿日期:2013-12-26

基金项目:广东省科技计划(编号:2009B030801044)。

作者简介:王海霞(1989—),女,硕士研究生,研究方向为中药质量控制。E-mail:wanghx200820@163.com。

通信作者:姬生国,男,博士,教授,主要从事中药资源、中药质量标准及中药新药研究。Tel:(020)39352327;E-mail:shengguo_ji@163.com。

1.650 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$),平均回收率为 97.1%, RSD 为 1.1% ($n=6$);儿茶素进样量在 0.240~6.000 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 6$),平均回收率为 97.5%, RSD 为 1.5% ($n=6$);表儿茶素进样量在 0.252~6.300 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 7$),平均回收率为 96.9%, RSD 为 1.2% ($n=6$)。

RP-HPLC 方法操作简便,分离效果好,数据准确可靠,研究结果为茶叶中没食子酸、儿茶素和表儿茶素的定量分析及茶叶的质量控制提供了方法依据。

参考文献:

- [1]宋立人,洪 恂,丁绪亮,等. 现代中药学大辞典:下册[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:1489-1492.
- [2]张国民,李平忠,孙 晶. 茶叶化学成分及研究现状[J]. 农业与技术,2012,32(5):226-226,230.

- [3]姜守刚,蒋建勤,王建营,等. 茶多酚的提取分离和分析鉴定研究[J]. 药学进展,2005,29(2):72-77.
- [4]刘作春,李玉山. 恩施绿茶多糖对糖尿病模型大鼠血糖的影响[J]. 现代预防医学,2009,36(7):1234-1235.
- [5]陈建国,江月仙,来伟旗,等. 茶多糖对四氧嘧啶糖尿病小鼠调节血糖及其抗氧化作用的探讨[J]. 毒理学杂志,2009,23(4):299-301.
- [6]孙志栋,顾富强,梁月荣,等. 茶多酚提取优化工艺研究[J]. 天然产物研究与开发,2007(19):490-493.
- [7]康海宁,陈 波,韩 超,等. HPLC 法测定茶叶水提液中五种儿茶素和咖啡碱及其用于茶叶分类的研究[J]. 分析测试学报,2007,26(2):211-215,220.
- [8]朱 旗,Clifford M N,毛清黎,等. LC-MS 分析普洱茶和茯砖茶与红茶成分的比较研究[J]. 茶叶科学,2006,26(3):191-194.
- [9]张国民,廖予琦,王庆忠. HPLC 内标标准曲线法测定茶叶中 4 种儿茶素和咖啡因[J]. 昆明学院学报,2010,32(3):47-50.