

李邦玉,吴 媛,吴虹燕,等. 紫外可见光谱法研究 EGCG 的稳定性[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):294-297.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.100

# 紫外可见光谱法研究 EGCG 的稳定性

李邦玉,吴 媛,吴虹燕,刘 臣

(苏州市职业大学应用化学研究室,江苏苏州 215104)

**摘要:**考察绿茶中表没食子儿茶素没食子酸酯在多种体系中的稳定性。通过柱色谱分离纯化绿茶中的表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)产品;采用紫外可见分光光度法定性研究温度、时间、酸碱、紫外光、溶剂等对 EGCG 稳定性影响,以及 EGCG 分别与  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{DPPH}\cdot$  的反应。研究结果,温度、时间、酸碱、紫外光等都不同程度影响 EGCG 稳定性,紫外可见光谱跟踪到了  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{DPPH}\cdot$  与 EGCG 的反应。

**关键词:**表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG);稳定性;紫外可见分光光度法

**中图分类号:**TS201.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)07-0294-03

表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是绿茶所含儿茶素中含量最多的功能成分。因为含有多个酚羟基,EGCG 具有很强的抗氧化活性,医药工业上应用于抗菌、抗癌、抗衰老等治疗,能够改善癌细胞对化疗的敏感性并减轻对心脏的毒性<sup>[1-3]</sup>。在食品工业中 EGCG 应用于抗氧化、保鲜、祛臭等产品,日化工业中作特殊功能添加剂等<sup>[4]</sup>。但是在含茶叶的食品、药品和饮料的加工和储藏过程中,EGCG 易受到温度、金属离子、酶和 pH 值等因素的影响,极易发生化学变化,从而改变了其原先的结构和生物活性<sup>[5-7]</sup>。因此考察 EGCG 的稳定性很有必要。本试验采用紫外可见分光光度法,定性研究不同环境条件下 EGCG 的稳定性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

EGCG 对照品(南京广润生物制品,98%), $\text{DPPH}\cdot$  (Sigma 公司生产)、无水乙醇、30%过氧化氢、盐酸、氢氧化钠、己烷、乙酸乙酯、四氯化碳、三氯甲烷、甲醇,以上药品皆为国产分析纯试剂。绿茶为苏州东山碧螺春茶厂提供。

紫外可见分光光度计:型号 UV-1801;十万分之一天平:CPA 225D;电热恒温水浴锅;三用紫外分析仪:WFH-203,上海精科实业有限公司;P230 型高效液相色谱仪:配有 P230<sup>+</sup> 紫外检测器;P230/P230p 高压恒泵;EC2000 色谱工作站:大连依利特分析仪器有限公司生产;RUC-5200 型超声波清洗机:上海睿祺公司生产。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 EGCG 的分离提纯** 取绿茶 10 g,置于 250 mL 容量瓶中,加入 95%乙醇 150 mL,80 ℃超声提取 30 min,提取 2 次,合并提取液,过滤、80 ℃减压回收乙醇,所得浓缩液上聚酰胺树脂,以乙醇-醋酸梯度洗脱,薄层层析跟踪检测,收集

EGCG 部位流分,脱色、浓缩、重结晶,得 EGCG 纯品,液相色谱法检测产品成分与纯度。

**1.2.2 浓度对 EGCG 的影响** 依次量取浓度为 501.4  $\mu\text{g/mL}$  EGCG 储备液 0.10、0.20、0.32、0.49、0.64 mL 于 25 mL 的比色管中,添加无水乙醇至 10 mL,配制浓度分别为 8、12、16、24、32  $\mu\text{g/mL}$  的梯度溶液,用紫外-可见分光光度计进行光谱扫描。

**1.2.3 温度对 EGCG 溶液的影响** 分别吸取浓度为 501.4  $\mu\text{g/mL}$  EGCG 储备液 2 mL 于 4 支 25 mL 比色管中,添加无水乙醇至 10 mL,制成同浓度的溶液,分别放入室温、40、60、80 ℃温度的水浴锅中 30 min,用紫外-可见分光光度计进行光谱扫描。

**1.2.4 时间对 EGCG 溶液的影响** 分别吸取 EGCG 储备液 2 mL 于 5 支比色管中,添加无水乙醇至 10 mL,制成同浓度的溶液,将其中 4 支比色管放入 80 ℃水浴锅中,分别在 1、3、5、7 h 后扫描吸收曲线,剩下 1 支不加热作为原液进行对比。

**1.2.5 紫外灯照射对 EGCG 溶液的影响** 分别吸取 2 mL EGCG 储备液于 6 支 25 mL 比色管中,添加无水乙醇至 10 mL,制成同浓度的溶液,将其中的 5 支比色管置于照射频率为 254 nm 紫外灯下照射,照射时间分别为 20、40、60、320、400 min,留 1 支比色管不照射紫外光作为对照,用紫外-可见分光光度计进行光谱扫描。

**1.2.6 pH 值对 EGCG 溶液的影响** 分别吸取 0.5 mL EGCG 储备液于 3 支 25 mL 比色管中,再加入 4 mL 水,编号 1、2、3,1 号作为对照液进行定性扫描,向 2 号比色管中逐滴加入 0.10、0.25、0.40、0.55、0.70、0.85 mL 盐酸(0.01 mol/L),分别定性扫描后与原液对比;向 3 号比色管中逐滴加入 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 mL 氢氧化钠(0.01 mol/L),分别定性扫描后与原液对比。

**1.2.7 溶剂对 EGCG 溶液的影响** 分别称取 EGCG 0.25 mg,转入 25 mL 比色管中,分别加入水、己烷、乙酸乙酯、四氯化碳、三氯甲烷、甲醇、乙醇定容至 25 mL,配制成浓度为 10.0  $\mu\text{g/mL}$  EGCG 溶液,用紫外-可见分光光度计进行光谱扫描。

**1.2.8  $\text{H}_2\text{O}_2$  与 EGCG 溶液的反应** 量取 4 mL 0.1 mmol/L

收稿日期:2014-07-30

基金项目:江苏省大学生实践创新训练计划(编号:201311054013Y)。

作者简介:李邦玉(1968—),男,安徽宣城人,博士,教授,主要从事有机化学及食品化学研究。E-mail:lbj@jssvc.edu.cn。

EGCG 储备液至 25 mL 比色管中,不断滴加 0.04 mol/L 的过氧化氢溶液,连续扫描其紫外吸收光谱图。

1.2.9 EGCG 与 DPPH· 的反应 量取 4 mL 0.1 mmol/L EGCG 储备液至 25 mL 比色管中,不断滴加 0.1 mmol/L 的 DPPH· 乙醇溶液,连续扫描其紫外吸收光谱图。

## 2 结果与分析

### 2.1 液相色谱法检测 EGCG 产品成分及含量

摸索得到的色谱分离条件为:色谱柱:Shimpak C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-冰醋酸 (20:80:0.2);检测波长:280 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:30 °C;进样量 5 μL。纯化的样品及 EGCG 对照品色谱如图 1、图 2。EGCG 纯度大于 97%。

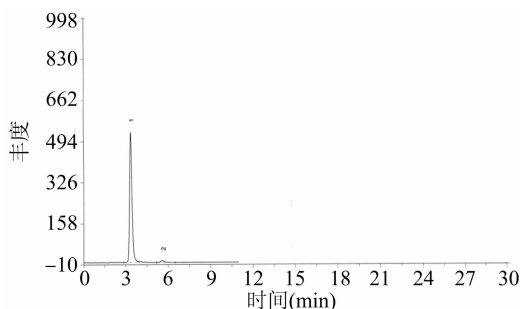


图1 EGCG 纯化样品的液相色谱

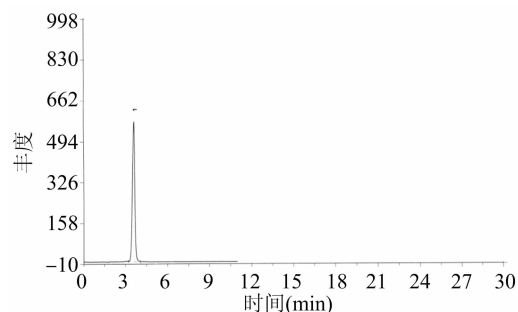


图2 EGCG对照品液相色谱

### 2.2 浓度对 EGCG 溶液的影响

由图 3 可知,EGCG 在 210、276 nm 处都有吸收峰。从 a 到 e,随着 EGCG 溶液浓度升高,EGCG 在 276 nm 处吸收峰位置不变且随着 EGCG 浓度增大而逐渐升高,可以作为其特征吸收,只是浓度过低时不显著。而在 200~220 nm 处吸收峰不稳定,随浓度增大而发生红移,所以该处吸收不能作为其特征吸收。

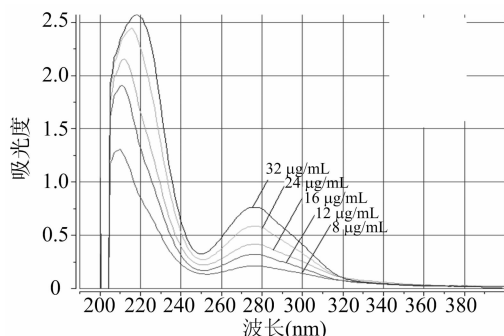


图3 不同浓度EGCG溶液紫外可见光谱

### 2.3 温度对 EGCG 溶液的影响

对 4 组 100.2 μg/mL EGCG 溶液,分别考察其在室温、40、60、80 °C 的水浴锅中加热 30 min 后的变化,用紫外-可见分光光度计进行定性光谱扫描。从图 4 可以看出,随着温度的升高,EGCG 溶液吸收曲线基本形状没有变化,只是吸收强度随温度的升高逐渐减弱,说明该浓度的 EGCG 溶液加热时发生了部分降解,温度越高降解程度越大。王静等发现即使在 0 °C 氧化 2 min,EGCG 的氧化程度也会达 0.3<sup>[7]</sup>。

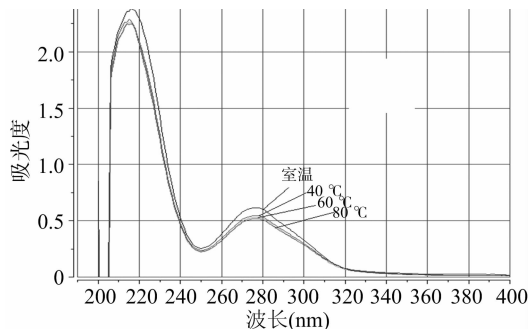


图4 不同温度下EGCG溶液紫外可见光谱

### 2.4 加热时间对 EGCG 溶液的影响

从图 5 可以看出,80 °C 下放置一段时间后,EGCG 溶液吸收曲线大体形状没有改变,276 nm 处特征吸收峰位置没有变化,吸光度值随放置时间延长而增大,1~5 h 内,吸收峰升高且趋于稳定,而 7 h 后吸收强度再次大幅增加。276 nm 处吸收强度增大应该与 EGCG 浓度增大没有关系,可能是其他类似物质大量产生引起的。吴平等研究了不同温度热处理的 EGCG,发现 EGCG 的氧化产物比较复杂,无法进行定量分析<sup>[8]</sup>,有待进一步研究。

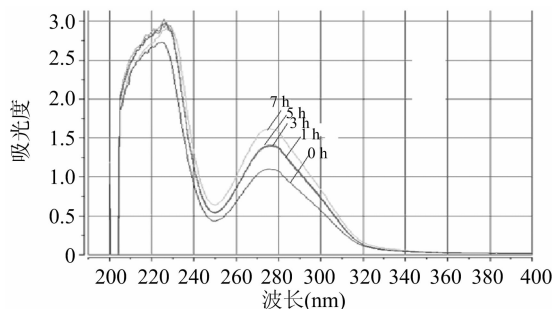


图5 80 °C下放置不同时间的EGCG溶液紫外可见光谱

### 2.5 紫外灯照射对 EGCG 溶液的影响

从图 6 可知,EGCG 经一段时间紫外光照射后,其吸收曲线基本形状没有明显改变,随着照射时间延长,276 nm 处特征吸收强度逐渐降低,可能是 EGCG 在紫外光照射下逐渐发生某种降解的缘故。

### 2.6 酸碱对 EGCG 溶液的影响

由图 7 可知,EGCG 溶液中加入不同量的盐酸后,溶液颜色没有变化,其光谱图基本形状也没有明显变化,从 276 nm 特征吸收处观察,随着加入盐酸的量逐渐增多,276 nm 处吸收强度降低幅度逐渐增大,但是总体幅度不大,说明 EGCG 在酸性体系中是相对稳定的,随着酸性增强稳定性逐渐有所降低。陈利燕等将不同酸度 (pH 值分别为 2.6、3.6、4.6、5.6) 的儿茶素溶液在 25 °C 放置 18 h 后,儿茶素的含量都有所减

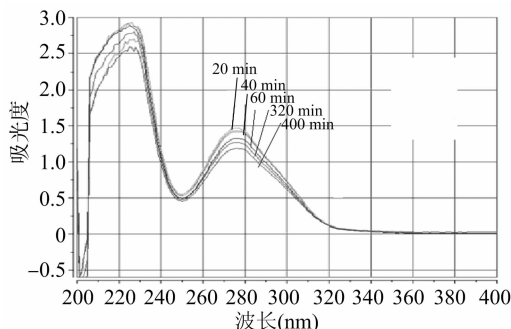


图6 紫外灯照射下EGCG溶液紫外可见光谱

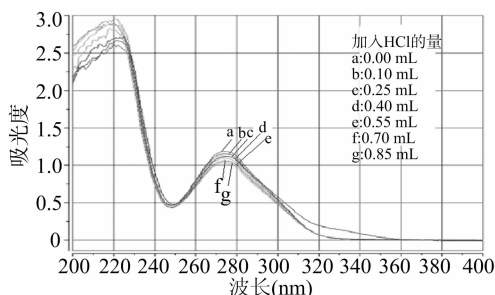


图7 加入 0.01 mol/L 盐酸后EGCG溶液紫外可见光谱

少,而 EGCG 是 8 种儿茶素组分中最稳定的<sup>[6]</sup>。

向 EGCG 溶液中逐滴加入氢氧化钠时,溶液由无色变为浅橙色,且逐渐加深。从图 8 可以看出,从 b 到 j,EGCG 体系中加入碱的量逐渐增大,EGCG 光谱图形发生明显变化,在 276 nm 处的特征吸收峰随着氢氧化钠加入越来越弱,在 323 nm 附近产生了 1 个新吸收宽峰,并且随着氢氧化钠的进一步加入,新吸收峰 323 nm 处强度越来越大。张玉艳等发现在碱性环境下,儿茶素酚羟基易与氢氧化钠作用生成酚钠,因此溶液呈现淡红色,生成的苯氧基负离子使吸收波长红移<sup>[9]</sup>。王静等也认为碱性条件有利于儿茶素 B 环上·OH 的裸露,更易发生氧化聚合,导致碱性条件下 EGCG 反应速率较快<sup>[7]</sup>。

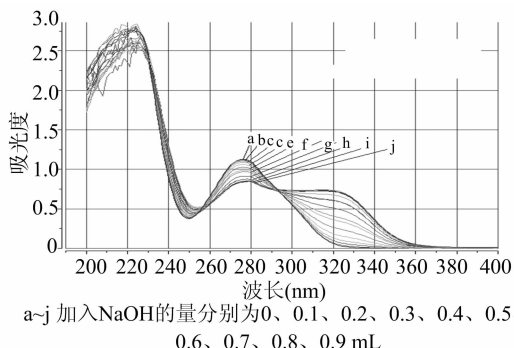


图8 加入 0.01 mol/L 氢氧化钠后EGCG溶液紫外可见光谱

## 2.7 溶剂对 EGCG 溶液的影响

EGCG 在己烷、乙酸乙酯中不溶、在四氯化碳、三氯甲烷中稍溶,能溶于乙醇、甲醇和水中。EGCG 的溶解度大小和溶剂的极性大小一致:水>甲醇>乙醇>乙酸乙酯>氯仿>四氯化碳>己烷,说明 EGCG 的溶解性随溶剂极性的减小而降低。

从图 9 可以看出,EGCG 的特征吸收峰位置不随溶剂变

化而改变,且乙醇作为溶剂时,EGCG 溶液在 276 nm 处的吸收峰最强。EGCG 在不同溶剂中 276 nm 处吸收强度顺序为:水<甲醇<乙醇,这与三者的极性大小顺序正好相反。在 210 nm 附近的吸收,随溶剂乙醇、甲醇、水极性升高而蓝移波数依次增加,且吸收强度逐渐减低。

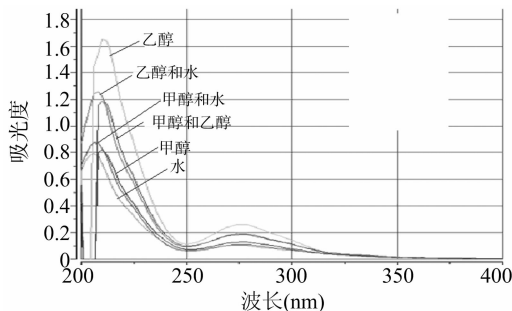


图9 在不同溶剂中的EGCG紫外可见光谱

## 2.8 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 与 EGCG 溶液的反应

由图 10 可知,从 b 到 r,在 EGCG 溶液中,随着 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 加入量的不断增加,EGCG 溶液在 276 nm 处的吸光度逐渐降低,最后消失,说明 EGCG 的特征结构已经遭到破坏。

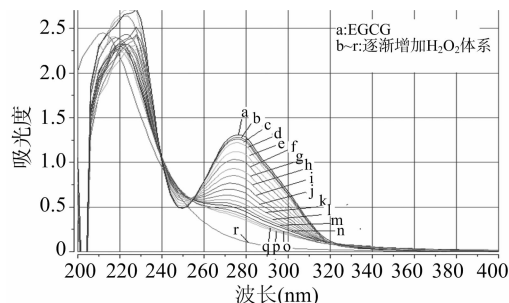


图10 过氧化氢滴加到 EGCG 中的紫外可见光谱

## 2.9 EGCG 与 DPPH· 的反应

从图 11 可以看出,在 EGCG 溶液中滴加少量 DPPH· 后,EGCG 的 276 nm 吸收峰位置和强度基本没有变化,而 250 nm 以及 300~500 nm 处吸收峰随着 DPPH· 的不断加入,吸收强度呈逐渐升高,以至于 EGCG 的 276 nm 特征吸收峰相对强度逐渐降低。说明体系中生成了其他物种,使吸收带复杂起来。

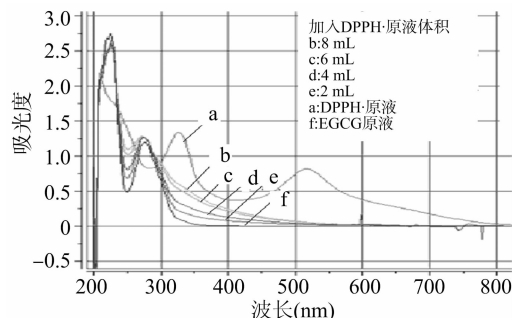


图11 DPPH 滴加到 EGCG 中的紫外可见光谱

## 3 结论

采用紫外可见分光光度法定性研究了 EGCG 在不同体系中的稳定性,初步跟踪了 EGCG 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、DPPH· 的反应。发

毕海丹,万照东,崔旭海,等. 花生壳总黄酮提取工艺优化及其抑菌活性研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):297-299.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.101

# 花生壳总黄酮提取工艺优化及其抑菌活性研究

毕海丹<sup>1</sup>, 万照东<sup>1,2</sup>, 崔旭海<sup>1</sup>, 李双双<sup>1</sup>

(1. 枣庄学院生命科学学院, 山东枣庄 277160; 2. 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

**摘要:**采用醇提法探索花生壳中总黄酮的最佳提取工艺,并研究其抑菌活性。结果表明:花生壳总黄酮的最佳提取工艺为乙醇溶液浓度 80%、提取温度 80 ℃、提取时间 3.0 h、料液比 1 g:20 mL,各因素对总黄酮得率的影响由大到小依次为提取温度、乙醇溶液浓度、料液比、提取时间;验证试验表明,最佳提取工艺下花生壳总黄酮得率为 0.618%;抑菌试验表明,花生壳总黄酮对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌具有一定抑菌作用,且其抑菌效果远优于山梨酸钾。

**关键词:**花生壳;总黄酮;提取;抑菌活性;正交试验

**中图分类号:** TS201.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)07-0297-03

中国是花生生产大国,花生种植广泛分布于全国各地,花生产量居世界第 1 位。花生壳是花生脱壳加工而产生的农副产品,其质量约占花生荚果总质量的 30% 左右。我国花生年产量约 1 460 万 t,其中花生壳质量就高达 450 万 t<sup>[1]</sup>。有研究将花生壳热压成型制作塑木板,或加工成饲料、燃料等,但大部分花生壳被作为废弃物扔掉,不但会破坏环境,而且造成了极大的资源浪费。黄酮类化合物具有清除体内自由基及毒素、预防心血管疾病以及抗过敏、抗肿瘤、广谱抗菌、抗病毒等作用<sup>[2-7]</sup>。本研究选用花生壳作为原料优化黄酮类化合物的提取工艺,并进行了抑菌试验,以期降低黄酮类产品生产成本、拓展花生综合利用领域奠定基础。

收稿日期:2014-07-30

基金项目:枣庄学院青年基金(编号:307050914);枣庄学院博士基金(编号:307070902)。

作者简介:毕海丹(1979—),女,黑龙江肇东人,硕士,讲师,研究方向为食品营养与安全。

通信作者:崔旭海,博士,副教授,研究方向为保健食品开发。  
E-mail:bhd20032003@163.com。

现 EGCG 的稳定性较差,温度、紫外光照、持续受热、酸碱条件、氧化剂和自由基等都会引起它的分解或转化。EGCG 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、DPPH· 的反应过程中紫外可见吸收光谱连续变化明显。

## 参考文献:

- [1] 仇燕燕,李楠,韩国柱,等. 表没食子儿茶素没食子酸酯的研究进展[J]. 中草药,2006,37(2):303-306.
- [2] 朱发伟. 茶叶中表没食子儿茶素没食子酸酯的研究进展[J]. 中草药,2005,36(8):1271-1272.
- [3] 葛建,林芳,李明揆,等. 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)生物活性研究进展[J]. 安徽农业大学学报,2011,38(2):156-163.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 将花生壳清洗烘干,冷却至室温,粉碎至通过孔径 0.3 mm 的网筛后,脱脂,备用。芸香苷标准品(纯度 99%)购于成都生物科技有限公司;大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)由枣庄学院生物学实验教学中心微生物实验室提供;培养基为琼脂营养培养基。

1.1.2 仪器 AL104 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多有限公司);FW100 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);JJ-1 型精密增力电动搅拌器(江苏省金坛市金城国胜实验仪器厂);R2018-II 型旋转蒸发器(郑州长城科工贸有限公司);DK-S26 型数显恒温水浴锅(上海三发科学仪器有限公司);SHB-III A 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);BM2000 型生物显微镜(南京江南永新光学有限公司);PLY-45 型恒温培养箱(天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司);SW-CJ-2FD 型超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);BXM-30R 型高压蒸汽灭菌锅(上海博讯实业有限公司)。

- [4] 臧鹏,屈维丽,于燕波,等. 表没食子儿茶素没食子酸酯在食品体系中的抗氧化作用研究[J]. 食品工业科技,2011,32(11):361-363.
- [5] 陈惠衡,傅冬和,施玲,等. 儿茶素稳定性试验研究[J]. 食品研究与开发,2009,30(4):10-12.
- [6] 陈利燕,屠幼英,陈暄,等. 儿茶素在酸性环境中的稳定性研究[J]. 茶叶,2002,28(2):86-88.
- [7] 王静,戚向阳. 表没食子酸儿茶素没食子酸酯体外氧化影响因素及其氧化产物分析[J]. 精细化工,2006(11):1094-1098.
- [8] 吴平,夏涛,高丽萍,等. 热处理过程中表没食子儿茶素没食子酸酯变化的动力学研究[J]. 食品与发酵工业,2010,36(11):34-39.
- [9] 张玉艳,沈生荣,唐德松,等. Cu<sup>2+</sup> 与 EGCG 络合作用的研究[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2004,30(3):290-295.