

HPLC-DAD 测定大茶树和小茶树的西湖龙井茶中 EGCG 的含量

蒲首丞, 潘立新, 叶玲仙, 陆方明 (浙江海洋学院萧山科技学院, 浙江杭州 311231)

摘要 [目的] 采用 HPLC-DAD 对西湖龙井茶中的表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的含量变化进行分析。[方法] 采用 Agilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇:水(2% 乙酸)15:85; 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 276 nm; 柱温: 35 °C。[结果] EGCG 线性范围为 0.152~3.040 μg, 相关系数 r 为 1, 平均回收率 97.61%, RSD 为 6.61%。[结论] 该方法精密度高、准确度高、稳定性高, 能简便、快速地测定大小茶树的西湖龙井茶中的 EGCG 含量。

关键词 HPLC-DAD; 西湖龙井茶; 表没食子儿茶素没食子酸酯; 含量

中图分类号 S571 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)12-03714-02

Quantitative Determination of EGCG of West Lake Longjing Tea from Big Tea Tree and Small Tea Tree by HPLC-DAD

PU Shou-cheng et al (Xiaoshan School of Science and Technology, Zhejiang Ocean University, Hangzhou, Zhejiang 311231)

Abstract [Objective] HPLC-DAD is used to analyze the content of EGCG from West Lake Longjing tea in different periods. [Method] Agilent C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) is taken as the column, methanol solution and 2% acetic acid water solution (15:85, V/V) as the mobile phase, the velocity of flow is 1.0 ml/min, the column temperature is 35 °C, the inspect wave length is 276 nm. [Result] The linear range of EGCG is 0.152-3.040 μg, $r = 1$, the average rate of recovery is 97.61% and the RSD is 6.61%. [Conclusion] The method was precise, accurate, highly stable, simple, convenient and rapid for the quantitative determination of EGCG.

Key words HPLC-DAD; West Lake Longjing tea; EGCG; Content

龙井茶位列我国十大名茶之一, 具有 1 200 多年历史。西湖龙井茶产于浙江杭州西湖区^[1]。儿茶素作为西湖龙井主要的生物活性成分之一, 主要化合物包括表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素没食子酸酯(EGC)和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)等^[2-3]。EGCG 是西湖龙井中含量较高的儿茶素, 现代研究表明, EGCG 具有显著的抗氧化、抗肿瘤、抗突变和心血管疾病等作用, 能够提高人体免疫功能, 抑制肿瘤的生长, 抑制肝脂和胆固醇的增长, 对金黄色葡萄球菌等细菌有极强的抑制作用^[4-5]。西湖龙井的明前开山茶一直都是研究人员和茶叶加工企业关注的焦点, 而且明前开山茶价格也十分昂贵。该研究采摘的西湖龙井茶为杭州西湖龙井茶原产地龙坞保护区的明前开山茶。目前对 EGCG 的分离提取及功效研究的文献较多, 但对明前西湖龙井茶青叶中 EGCG 含量的研究鲜有文献报道。笔者通过对龙坞同一保护区的大茶树和小茶树的西湖龙井茶 EGCG 含量测定, 为人们的实际需要提供参考, 为以茶叶加工企业提供试验依据。

1 材料与方 法

1.1 材料 研究对象: 西湖龙井茶青叶, 杭州龙坞明前采集。主要试剂: 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG), 上海源叶公司, 含量 98%; 甲醇为色谱纯试剂; 其他试剂均为分析纯; 试验用水为艾柯超纯水。主要仪器: Agilent1260 型高效液相色谱仪, Agilent 公司, 包括 DAD 检测器, Agilent chem 工作站; 电子分析天平, 赛多利斯; 恒温水浴锅, 精宏公司; 真空干燥箱, 天呈; RA-25AA 旋转蒸发仪, 上海亚荣。

1.2 方 法

1.2.1 色谱条件。 色谱柱为 Agilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×

150 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇:水(2% 乙酸)15:85; 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 276 nm; 柱温: 35 °C。

1.2.2 对照品溶液的制备。 精密称取经真空干燥 24 h 处理后的 15.2 mg 表没食子儿茶素没食子酸酯对照品, 置于 100 ml 容量瓶中, 加水溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液, 于冰箱中低温保存备用。表没食子儿茶素没食子酸酯浓度为 152 μg/ml。

1.2.3 供试品溶液的制备。 分别准确称取样品约 1.0 g, 置于 500 ml 平底烧瓶中, 加入 100 ml 80 °C 水, 置 85 °C 的水浴中加热回流 1 h, 共水浴加热回流 2 次, 经过滤收集滤液, 最后减压浓缩滤液, 定容至 50 ml 容量瓶中, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液待测。

2 结果与分析

2.1 目标组分的确定 按照“1.2”项色谱条件下, 对照品溶液和供试品溶液分别进样 10 μl, DAD 检测器检测分析, 在波长为 276 nm 下是 EGCG 的最大吸收, DAD 检测器检测记录储存 200~400 nm 的所有色谱, 对照品与样品茶的 EGCG 的保留时间都在 8.3 min(图 1)。

2.2 流动相的选择 测定 EGCG 含量, 流动相为甲醇:水系统和甲醇:水(2% 乙酸)系统, 进行对比试验发现, 2 个系统都能使 EGCG 分离开来(分离度 $R > 1.5$), 甲醇:水系统中 EGCG 严重拖尾, 而甲醇:水(2% 乙酸)系统中 EGCG 峰形比较好, 故选择甲醇:水(2% 乙酸)15:85 为该测定方法的流动相系统。

2.3 线性关系试验 精密吸取上述对照品溶液分析, 进样量分别为 2、4、6、8、10、12、16、20 μl, 测其峰面积, 以标准溶液的进样量 X 为横坐标, 以峰面积 Y 为纵坐标作图, 得到线性回归方程为 $Y = 774.33X - 10.585$, 相关系数为 r 为 1, 表明 EGCG 在 0.152~3.040 μg 范围内与峰面积之间线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取“1.2.2”项配制的对照品溶液

基金项目 浙江省教育厅项目(Y200908478)。

作者简介 蒲首丞(1978-), 男, 浙江杭州人, 讲师, 博士, 从事天然产物化学研究。

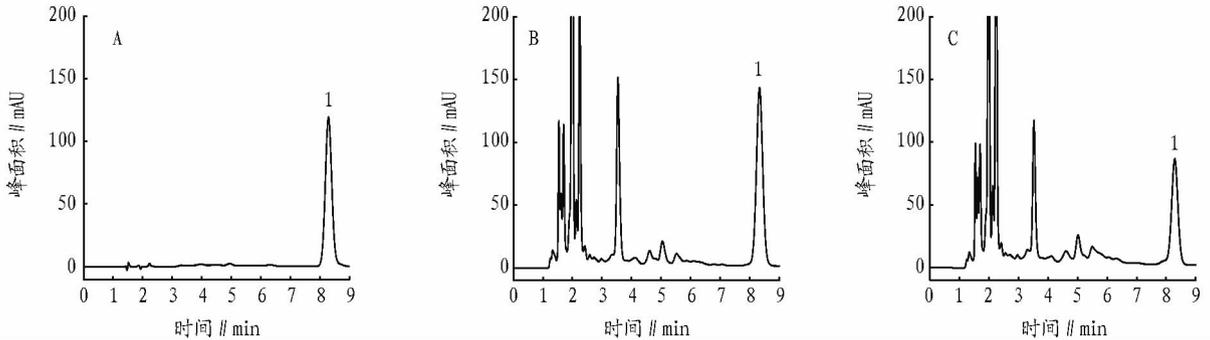
收稿日期 2014-04-04

10 μl 进样,依上述色谱条件测定,重复进样 5 次,测定 EGCG 峰面积, *RSD* 为 0.38%,结果表明,仪器具有较好的精密度。

2.5 稳定性试验 分别取“1.2.3”项制备的大茶树青叶、小茶树青叶 2 种供试样品溶液 10 μl ,于 0、2、4、6、8、10 h 进样测定,各重复进样 6 次,测定目标组分的含量,以考察供试品溶液的稳定性,10 h 大茶树茶和小茶树样品 EGCG 组分

RSD 分别为 2.8%、3.1%。结果表明,供试品溶液在 10 h 内基本稳定。

2.6 加样回收试验 精密称取已知含量的茶样品 6 份,分别精密加入一定量 EGCG 对照品,按供试品溶液制备方法制备样品溶液,依上述色谱条件测定含量。结果显示,该方法具有较高的准确度(表 1)。



注:A. 对照品;B. 大茶树;C. 小茶树;1. EGCG。

图 1 对照品与样品 HPLC 色谱

表 1 回收率试验结果

样品编号	样品含量 / mg	加入量 / mg	测得量 / mg	回收率 / %	平均回收率 / %	<i>RSD</i> / %
1	0.933	0.8	1.733	100.00	97.61	6.16
2	0.933	0.8	1.627	86.75		
3	0.933	0.9	1.813	97.78		
4	0.933	0.9	1.801	96.44		
5	0.933	1.0	1.988	105.50		
6	0.933	1.0	1.925	99.20		

2.7 样品中 EGCG 含量的测定 按照“1.2.3”项制备 3 个大茶树和 3 个小茶树西湖龙井茶叶供试品溶液,按“1.2.1”项色谱条件进样测定,每样重复进样 3 次,求峰面积均值,按外标法计算其含量。大茶树中 EGCG 的含量为:14.151 mg/g (*RSD* 0.56%), 15.534 mg/g (*RSD* 0.66%), 13.526 mg/g (*RSD* 0.75%), 平均含量 14.404 mg/g;小茶树中 EGCG 的含量为:8.645 mg/g (*RSD* 0.56%), 9.326 mg/g (*RSD* 0.59%), 8.957 mg/g (*RSD* 0.63%), 平均含量 8.976 mg/g。

3 结论

采用 HPLC-DAD 法对大茶树和小茶树的西湖龙井茶中的 EGCG 进行了含量分析,试验结果表明,大茶树西湖龙井茶青叶中 EGCG 平均含量为 14.404 mg/g,含量较高;小茶树西湖龙井茶青叶中 EGCG 平均含量为 8.976 mg/g,比大茶树含量低。该试验为人们选择茶叶原料提供参考,为企业对原料等级划分提供了试验依据。该测定茶中 EGCG 含量的方法操作简单、重现性好、分析结果准确可靠,可用于原料茶的质量控制。

参考文献

(上接第 3683 页)

和光谱尺度有初步的探索,但还未考虑到时间分辨率和复杂的水环境等因素的影响,尺度对模型的影响还有待于进一步研究^[9-10]。

参考文献

- [1] 陈军,王伟财,王保军,等. 悬浮泥沙浓度分布方差与尺度修正——八邻域算法[J]. 红外与毫米波学报,2010,29(6):440-444.
- [2] 万华伟,王锦地. 植被波谱空间尺度效应及尺度转换方法初步研究[J]. 遥感学报,2008,12(4):538-545.
- [3] 马荣华,唐军武,段洪涛,等. 湖泊水色遥感研究进展[J]. 湖泊科学,2009,21(2):143-158.
- [4] 张瑾,陈向东. 小波分析在遥感图像增强中的应用及 MATLAB 实现[J]. 半导体光电,2005,26(3):155-157.

- [1] 张龙,王飞娟,潘家荣,等. 近红外光谱和模式识别技术在西湖龙井与浙江龙井茶叶鉴别中的应用[J]. 红外,2012,33(3):44-48.
- [2] 卢涛,兰先秋,朱斌,等. 不同茶多酚中儿茶素的测定及柱层析法提取 EGCG 的比较[J]. 化工进展,2008,27(5):746-752.
- [3] 王霞,高丽娟,林炳昌. 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的分离与制备[J]. 食品科学,2005,26(9):242-245.
- [4] 梁晓岚,陈春林. 茶多酚的研究进展[J]. 茶叶科学技术,1994(1):6-8.
- [5] 张瑜,邹国林,彭少君. 表没食子儿茶素没食子酸酯研究进展[J]. 氨基酸和生物资源,1998,20(4):51-54.
- [5] 王富荣. 基于提升小波变换的图像压缩研究[D]. 苏州:苏州大学,2006.
- [6] KIM G, BARROS A P. Downscaling of remotely sensed soil moisture with a modified fractal interpolation method using contraction mapping and ancillary data[J]. Remote Sensing of Environment,2002,83(3):400-413.
- [7] 朱利,姚延娟,吴传庆,等. 基于环境一号卫星的内陆水体水质多光谱遥感监测[J]. 地理与地理信息科学,2010(3):143-158.
- [8] 王桥,杨煜,吴传庆. 环境减灾-1A 卫星超光谱数据反演叶绿素 a 浓度的模型研究[J]. 航天器工程,2009,18(6):143-158.
- [9] ATKINSON P M, CURRAN P J. Choosing an appropriate spatial resolution for remote sensing investigations [J]. Photogrammetric Engineering and Remote Sensing,1997,63(12):1345-1351.
- [10] ATKINSON P M, TATE N J. Spatial scale problems and geostatistical solutions: A review [J]. Professional Geographer,2000,52(4):607-623.