

王丽丽, 陈键, 宋振硕, 等. 茶叶中没食子酸、儿茶素类和生物碱的 HPLC 检测方法研究[J]. 福建农业学报, 2014, 29(10): 987-994.
WANG L-L, CHEN J, SONG Z-S, et al. Simultaneous HPLC Determination of Gallic Acid, Catechins and Alkaloids in Tea [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2014, 29 (10): 987-994.

茶叶中没食子酸、儿茶素类和生物碱的 HPLC 检测方法研究

王丽丽, 陈键, 宋振硕, 陈林*

(福建省农业科学院茶叶研究所, 福建 福安 355015)

摘要: 比较 Zorbax SB-C18 与 TSKgel ODS-100Z 这 2 种色谱柱对 12 个组分的分离效果, 从洗脱方式、流动相 pH 值、柱温与流速等方面优化色谱条件, 并对其进行方法学考查以及茶样测定应用, 从而建立了一种同时测定茶叶中没食子酸 (GA)、8 种儿茶素类 (GC、EGC、C、EGCG、EC、GCG、ECG、CG) 与 3 种生物碱 (可可碱、茶碱、咖啡碱) 的高效液相色谱 (HPLC) 检测方法。确立的最优色谱条件为: 采用 TSKgel ODS-100Z (4.6 mm×150 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为 2% 甲酸水溶液 (A 相) 和甲醇 (B 相), 洗脱方式为 83% A (0 min) → 75% A (5 min) → 73% A (7 min) → 58% A (16 min) → 83% A (18 min), 柱温为 40°C, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 280 nm。茶叶中各组分回归方程的相关系数均在 0.999 0 以上, 保留时间与峰面积的精密度 RSD 分别小于 0.105% 与 4.076%, 加标回收率在 97.767% ~ 104.766%。该方法具有良好的线性关系、精密度和回收率, 对待测组分的分离效果好, 适用于茶叶中没食子酸、儿茶素类及生物碱含量的准确测定。

关键词: 茶叶; HPLC; 没食子酸; 儿茶素类; 生物碱

中图分类号: TS 272.2

文献标识码: A

Simultaneous HPLC Determination of Gallic Acid, Catechins and Alkaloids in Tea

WANG Li-li, Chen Jian, Song Zhen-shuo, Chen Lin*

(Tea Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fu'an, Fujian 355015, China)

Abstract: Using HPLC, an analytical method was developed to simultaneously determine the contents of gallic acid (GA), 8 catechins (i. e., GC, EGC, C, EGCG, EC, GCG, ECG and CG) and 3 alkaloids (i. e., theobromine, theophylline and caffeine) in tea. Separation of the 12 chemicals on two chromatographic columns (Zorbax SB-C18 and TSKgel ODS-100Z) were investigated. The chromatographic conditions applied were the result from optimizations of the elution mode, pH of the mobile phase, column temperature and flow rate. They included: maintaining TSKgel ODS-100Z column at 40°C, using 2% formic acid-water solution (mobile phase A) and methanol (mobile phase B) with the gradient elution mode of 83% A (0min) → 75% A (5min) → 73% A (7min) → 58% A (16min) → 83% A (18min) at the flow rate of 1.0 mL · min⁻¹, and detecting at the wavelength of 280 nm. Methodological evaluation and application on 6 tea samples were subsequently conducted for verification. The correlation coefficients of the resulting linear equations for all of the components were greater than 0.9990, RSDs % of accuracy of the retention time and peak area lower than 0.105% and 4.076%, respectively, and the recovery rates from 97.767% to 104.766%. It appeared that the newly developed analytical method could yield linear relationships on data, as well as desirable precision, recovery and separability on the measurements for accurate and simultaneous determinations of gallic acid, catechins and alkaloids in tea.

Key words: tea; HPLC; gallic acid; catechins; alkaloids

茶叶具有清除自由基、抗氧化、抗肿瘤和兴奋神经中枢等多种保健功效^[1~4], 其主要活性成分为

儿茶素类和咖啡碱。高效液相色谱 (HPLC) 检测法是目前分析茶叶儿茶素类的主要方法。以往

收稿日期: 2014-06-09 初稿; 2014-07-10 修改稿

作者简介: 王丽丽 (1985—), 女, 硕士, 研究实习员, 主要从事茶叶生物化学与天然产物分离纯化技术研究

* 通讯作者: 陈林 (1975—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事茶叶加工、茶叶生物化学及综合利用研究 (E-mail: chenlin_xy@163.com)

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2012J01099); 福建省农业科学院导师制青年科技创新基金项目 (2012DQB-14); 福建省财政专项——福建省农业科学院科技创新团队建设项目 (CXTD-1-1302)

HPLC 测定方法中存在流动相组成较为复杂^[5]、分析时间较长（超过 30 min）^[6-7]、分离效果不够理想^[8]和分离的儿茶素组分较少^[9]等问题，难以满足现阶段儿茶素含量快速准确的测定需求。鉴于此，本试验通过比较 Zorbax SB-C18 与 TSKgel ODS-100Z 2 种色谱柱对没食子酸（GA）、8 种儿茶素类（GC、EGC、C、EGCG、EC、GCG、ECG 和 CG）与 3 种生物碱（可可碱、茶碱和咖啡碱）等 12 个组分的分离效果，以及从洗脱方式、流动相 pH 值、柱温与流速等方面优化色谱条件，建立了一种可同时分离分析茶叶中 12 个组分的 HPLC 检测方法，为今后茶叶中儿茶素类与生物碱含量的快速测定、茶及茶多酚制品（茶饮料、茶食品和保健品）质量控制、茶树多酚代谢的生理调控机制与特异品种选育研究等奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

供试茶样：绿茶（福云 6 号，自制）、坦洋工夫红茶（坦洋菜茶，市售），闽北乌龙茶（肉桂与水仙，武夷山市九曲溪前岩茶厂）、和闽南乌龙茶（铁观音与黄金桂，安溪远荣茶厂）。

表没食子儿茶素（epigallocatechin, EGC）、表没食子儿茶素没食子酸酯（epigallocatechin gallicacid, EGCG）、表儿茶素（epicatechin, EC）、表儿茶素没食子酸酯（epicatechin gallate, ECG）、没食子酸（gallate, GA）、可可碱（theobromine, TB）和咖啡碱（caffeine, CAF）购自阿拉丁（试剂）上海有限公司，纯度均>98%；茶碱（theophylline, TP）、没食子儿茶素（galloycatechin, GC）和没食子儿茶素没食子酸酯（galloycatechin gallate, GCG）购自海阿达玛斯有限公司，纯度均>98%；儿茶素（catechin, C）和儿茶素没食子酸酯（catechin gallate, CG）购自美国 Sigma 公司，纯度>98%；甲醇（HPLC 级，Sigma-Aldrich）；甲酸溶液 [含量 49% ~ 51% (T), HPLC 级, Fluka]；甲醇（分析纯，上海国药）；超纯水。

美国 Agilent1260 型液相色谱系统，包括四元泵（G1311C VL）、标准自动进样器（G1329B）、柱温箱（G1316A）和二极管阵列检测器（G1315D VL）；AL204 电子天平（美国 Mettler Toledo）；色谱柱 Zorbax SB-C18（4.6 mm × 150 mm, 5 μm, 美国 Agilent）与 TSKgel ODS-100Z（4.6 mm × 150 mm, 5 μm, 日本 Tosoh）；ACD-0502-

U 实验室超纯水系统（重庆颐洋）；A11 basic 分析用研磨机和 MS3 basic 小型涡旋混合器（德国 IKA）；DHC-9246A 电热恒温鼓风干燥箱（上海精宏）；DK-8D 型电热恒温水浴槽（上海一恒）；pH 精密试纸（pH 值 0.5~5.5，上海三爱思）；PTFE 针式滤器（0.45 μm, TROODY）等。

1.2 HPLC 方法建立

1.2.1 标准品溶液制备 分别称取各标准品（GA、EGC、EGCG、EC、ECG、GC、GCG、C、CG、可可碱、咖啡碱和茶碱）适量，用 20% HPLC 级甲醇溶解，定容至 10 mL，制成浓度依次为 200、400、400、400、400、200、400、200、400、400、400 μg · mL⁻¹ 的标准品储备液，-20℃ 保存备用。取各储备液适量，按一定比例稀释，制成一系列不同质量浓度的标准品溶液。另取各储备液适量，混匀，制成混合标准液，于 4℃ 保存备用。

1.2.2 色谱条件优化 主要参照文献 [10] 的色谱条件，流动相为 2% 甲酸水溶液（A 相）和甲醇（B 相），洗脱程序为 82% A (0 min) → 40% A (15 min) → 82% A (17 min)，进样量 10 μL，柱温 40℃，流速 1 mL · min⁻¹，检测波长 280 nm，比较 Zorbax SB-C18 与 TSKgel ODS-100Z 2 种色谱柱对 12 个组分的分离效果，选取合适色谱柱。然后分别以洗脱方式① 82% A (0 min) → 40% A (15 min) → 82% A (17 min)；② 83% A (0 min) → 50% A (16 min) → 83% A (18 min)；③ 83% A (0 min) → 75% A (5 min) → 73% A (7 min) → 58% A (16 min) → 83% A (18 min)]、pH 值（2.5、3.0、3.5、4.0）、柱温（36、38、40℃）、流速（0.8、1.0、1.2 mL · min⁻¹）为试验因素考查该色谱柱的分离效果，由此确立最优色谱条件。

1.2.3 方法学考查及茶样测定 从标准曲线、检出限、定量限、精密度、稳定性和回收率等方面对上述最优色谱条件予以考查，验证其运行效果，并以该方法检测茶样中没食子酸、儿茶素类和生物碱含量。茶样的干物质含量测定参照文献 [11]，提取方法^[12]具体如下：称取磨碎茶样 0.200 g，加经 70℃ 预热过的 70% 甲醇溶液 10 mL，涡旋混匀，70℃ 水浴浸提 20 min，待冷却，将上清液转移至 10 mL 容量瓶，定容。取上述溶液，用流动相 A 稀释至合适浓度，过膜，待测。以上提取试验均做 3 个平行，待测组分含量以平均值表示。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的优化

2.1.1 色谱柱的选择 Zorbax SB-C18与TSKgel ODS-100Z 2种色谱柱对12个组分的分离情况见图1。结果表明,对Zorbax SB-C18色谱柱而言,若采用线性洗脱方式,8、9、10号峰很难达到完全分离,尤其是9号峰,与10号峰几乎完全重叠,其余组分

则得到良好分离(除1、2号峰外);而且即使进一步局部微调或整体调整洗脱梯度,以及(或)改变柱温、流速等都较难使9、10号峰出现较好分离。而TSKgel ODS-100Z色谱柱则恰好相反,8、9号峰极易相互分离,9、10号峰基本分开,仅5、6号峰尚未达到完全基线分离。因此,后续试验拟选用TSKgel ODS-100Z色谱柱,从洗脱方式、流动相pH值、柱温与流速等方面优化色谱条件。

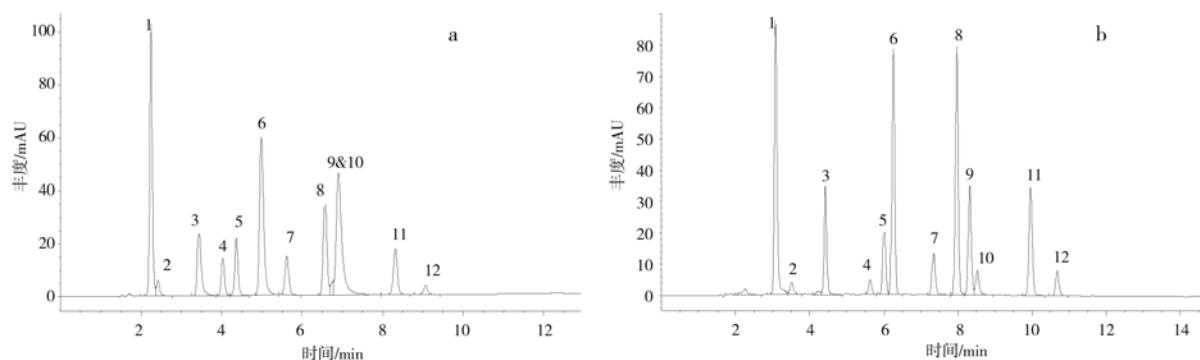


图1 12个组分在2种色谱柱上的分离情况

Fig. 1 Separation of 12 components on 2 chromatographic columns

注:①峰号与组分依次对应为:1为GA,2为GC,3为TB,4为EGC,5为C,6为TP,7为EGCG,8为CAF,9为EC,10为GCG,11为ECG,12为CG;②色谱条件为:流动相为2%甲酸水溶液(A相)和甲醇(B相);③色谱柱:a为Zorbax SB-C18色谱柱,82%A(0 min)→40%A(15 min)→82%A(17 min),b为TSKgel ODS-100Z色谱柱。

2.1.2 洗脱方式 流动相由A相与B相组成,两相的配比情况与洗脱方式相一致。试验发现,若整个阶段维持快速线性洗脱,12个组分在10 min内全部出峰,除8、9号峰尚未完全达到基线分离外,其余组分分离良好(图2-a)。在此基础上,减慢洗脱的线性变化梯度,即降低洗脱终点(16 min)流动相中A相比例,8、9、10号峰分离效果明显改善,组分出峰时间延长至12 min(图2-b);若进一步减慢线性洗脱梯度,同时局部(5~7 min内)调整洗脱梯度,则能进一步提高9、10号峰的分离度(图2-c)。比较而言,b、c 2种洗脱方式均可使所有组分基本达到基线分离,且前者检测时间更短,但考虑到分析茶叶样品时其他杂质可能造成的干扰影响,为保证9、10号峰之间有更大的分离度,因此认为,采用洗脱方式c为宜。

2.1.3 流动相pH值 TSKgel ODS-100Z色谱柱所能承受的pH值范围为2.0~7.5,以及酸性条件有利于儿茶素类物质的稳定存在^[8],因此试验通过改变A相中甲酸浓度来调节pH值,并比较不同pH值(4.0、3.5、3.0和2.5)条件下12个组分的分离情况(图3)。结果显示,不同浓度的甲

酸水溶液对5、6号峰的分离有明显影响,表现为:当pH值为3.0、3.5与4.0时,5、6号峰有明显重叠;pH值为2.5,两峰重叠最少,分离效果最佳。此外,pH值为4.0时,1号峰(GA)、10号峰(GCG)与12号峰(CG)的对称因子分别是0.75、0.72和0.71,峰对称性差,有拖尾;pH值为2.5、3.0与3.5时,各组分对称因子在0.80~0.99,峰对称性得到改善。由此说明强酸环境能有效抑制色谱峰的拖尾。试验还发现,不同pH值条件下,GA(1号峰)峰面积大小不一致,以pH 4.0时峰面积最小。由此确定最佳pH值为2.5,即宜选2%甲酸水溶液作流动A相。

2.1.4 柱温 HPLC方法柱温一般控制在40℃以内,高于40℃运行则有损于色谱柱的使用寿命。试验考查了36、38、40℃柱温下TSKgel ODS-100Z色谱柱对12组分的分离效果,结果表明,柱温40℃时各组分分离效果良好,随着柱温的降低,5、6号峰分离效果变差,至柱温36℃时两者重叠为1峰,且低温时7、8号峰也出现两峰重叠现象,分离效果差(图4)。因此40℃为最佳柱温。

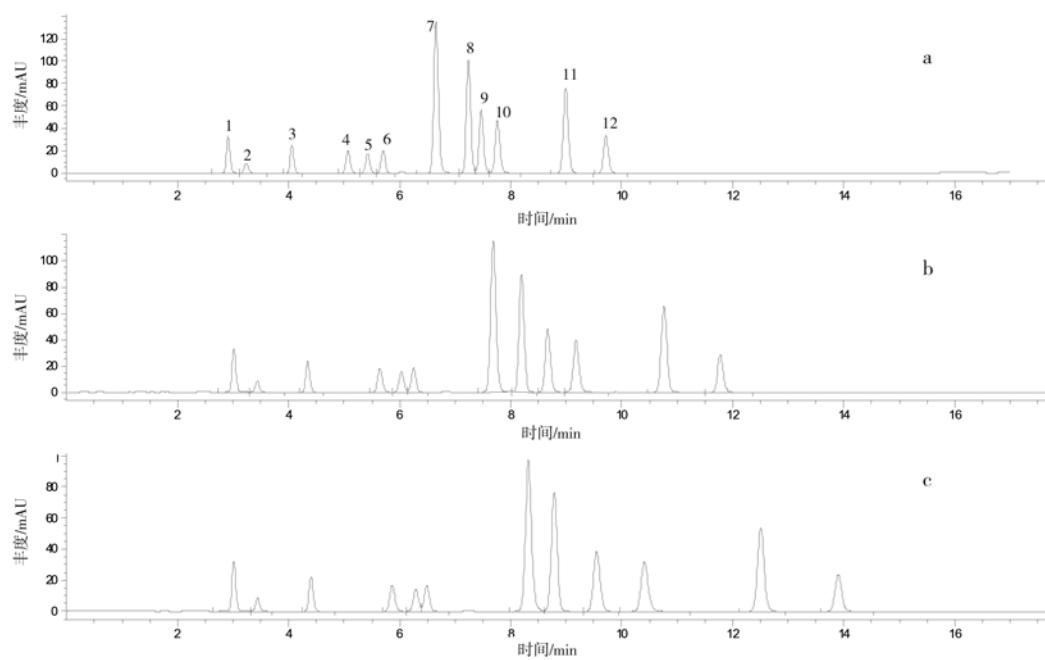


图 2 不同洗脱方式下 12 个组分的 HPLC

Fig. 2 HPLC of 12 components under different elution modes

注：流动相为 2% 甲酸水溶液（A 相）和甲醇（B 相）；洗脱方式依次为：a) 82% A (0 min) → 40% A (15 min) → 82% A (17 min)，b) 83% A (0 min) → 50% A (18 min) → 83% A (18 min)，c) 83% A (0 min) → 75% A (5 min) → 73% A (7 min) → 58% A (16 min) → 83% A (18 min)；色谱柱：TSKgel ODS-100Z；柱温 40℃；流速 1 mL·min⁻¹；进样量 10 μL；检测波长 280 nm。在不特别指明的情况下，以下试验中色谱条件参数均以上述设定为准。

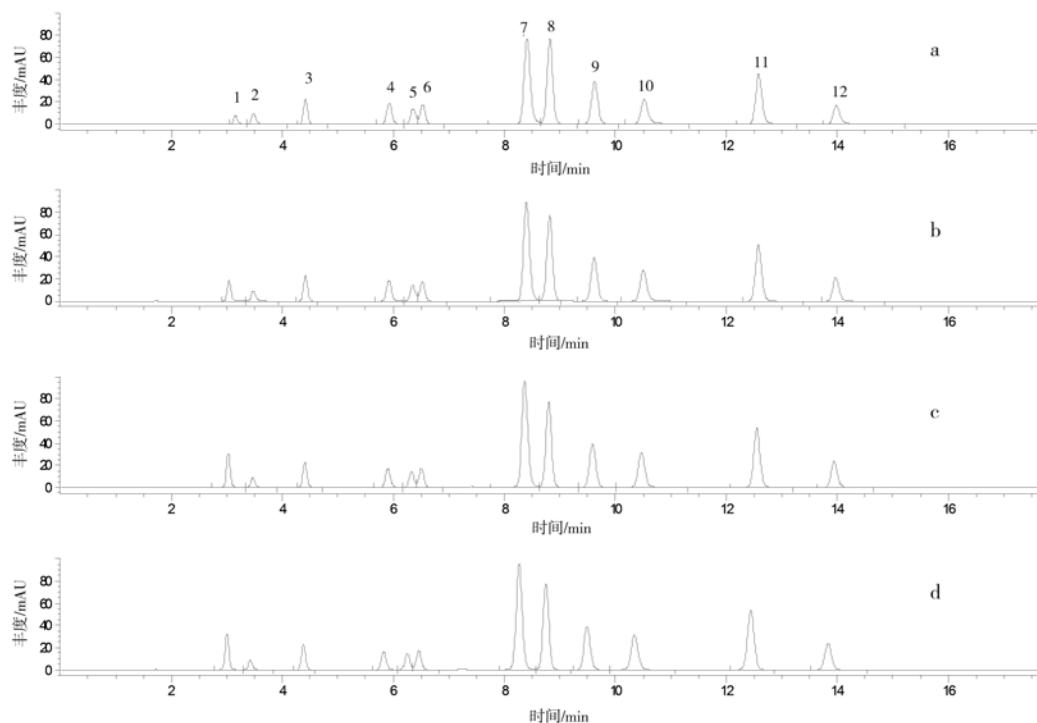


图 3 不同 pH 条件下 12 个组分的 HPLC

Fig. 3 HPLC of 12 components under different pHs

注：①洗脱方式为：83% A (0 min) → 75% A (5 min) → 73% A (7 min) → 58% A (16 min) → 83% A (18 min)；②a、b、c、d 流动相 pH 值依次设 4.0、3.5、3.0 与 2.5。

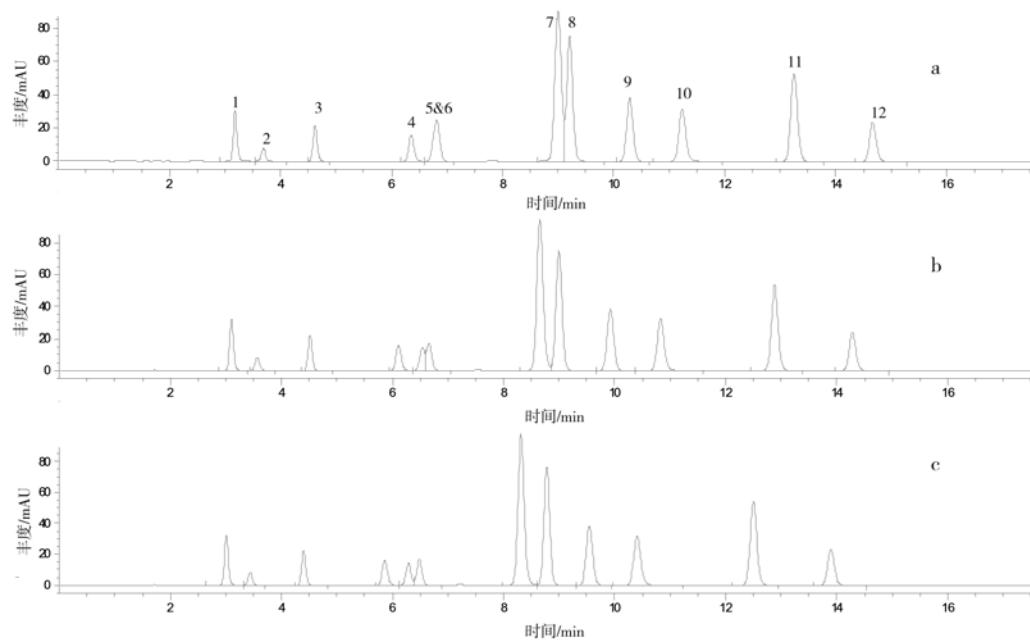


图 4 不同柱温条件下 12 个组分 HPLC

Fig. 4 HPLC of 12 components under different column temperatures

注: ①洗脱方式为: 83% A (0 min) → 75% A (5 min) → 73% A (7 min) → 58% A (16 min) → 83% A (18 min); ②a、b、c
柱温依次为 36°C、38°C 与 40°C。

2.1.5 流速 流速变化会相应地改变待测组分的出峰时间, 即保留时间。如图 5 所示, 0.8 mL · min⁻¹ 和 1.0 mL · min⁻¹ 流速下, 12 组分皆可实现较好的分离效果, 相较来说, 0.8 mL · min⁻¹ 流速延迟了各组分

的出峰时间; 1.2 mL · min⁻¹ 流速下, 各组分出峰时间更快, 但 5、6 号峰分离效果明显差于 0.8 mL · min⁻¹ 和 1.0 mL · min⁻¹ 流速。综合以上考虑, 选取 1.0 mL · min⁻¹ 流速为最佳流速。

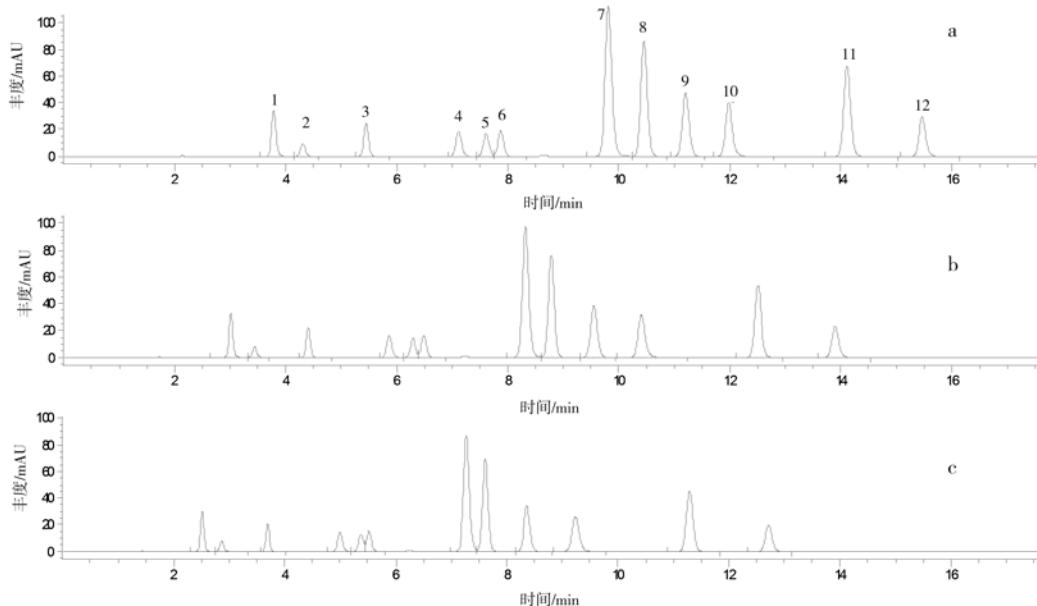


图 5 不同流速条件下 12 个组分 HPLC

Fig. 5 HPLC of 12 components under different flow rates

注: ①洗脱方式为: 83% A (0 min) → 75% A (5 min) → 73% A (7 min) → 58% A (16 min) → 83% A (18 min); ②a、b、c
流速依次为 0.8、1.0、1.2 mL · min⁻¹。

2.2 方法学考察及茶样测定

2.2.1 标准曲线、检出限和定量限 取不同质量浓度的各标准品溶液适量, 按“2.1”试验确立的最优色谱条件 [色谱柱: TSKgel ODS-100Z; 流动相: 2% 甲酸水溶液 (A 相) 和甲醇 (B 相); 洗脱方式: 83% A (0 min) → 75% A (5 min) → 73% A (7 min) → 58% A (16 min) → 83% A (18 min); 柱温 40°C; 流速 1 mL · min⁻¹; 进样量 10 μL; 检测波长 280 nm] 分析, 测得各色谱峰的峰

面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 制作标准曲线。将各标准品溶液稀释成很低浓度后进样, 以 S/N ≥ 3 与 S/N ≥ 10 测得检测限和定量限。所有回归方程的相关系数在 0.9990 以上, 表明各组分在所测浓度范围内进样量 X (μg · mL⁻¹) 与峰面积 Y (mAU × S) 呈良好的线性关系。其保留时间、回归方程、相关系数、线性范围、检测限和定量限见表 1。

表 1 保留时间(min)、回归方程、相关系数、线性范围、检测限和定量限

Table 1 Retention time (min), linear equation, correlation coefficient, linear range, detection limit and quantitative limit

[单位/(μg · mL⁻¹)]

组分编号	保留时间	回归方程	相关系数	线性范围	检出限	定量限
1	2.993	Y=27.702X-5.170	1.0000	3.125~50	0.015	0.045
2	3.398	Y=1.579X-1.175	0.9990	3.125~50	0.333	1.000
3	4.361	Y=22.494X+0.393	1.0000	3.125~50	0.015	0.050
4	5.796	Y=1.490X-7.512	0.9991	12.5~200	0.333	1.000
5	6.232	Y=8.378X-1.789	0.9999	3.125~50	0.050	0.200
6	6.448	Y=23.965X+0.590	1.0000	3.125~50	0.016	0.050
7	8.225	Y=12.554X-8.734	1.0000	12.5~200	0.200	0.833
8	8.738	Y=25.821X+0.306	1.0000	3.125~50	0.024	0.050
9	9.476	Y=7.574X+0.114	1.0000	6.25~100	0.050	0.200
10	10.277	Y=11.443X-20.767	0.9999	12.5~200	0.050	0.150
11	12.423	Y=17.467X-7.527	1.0000	12.5~200	0.050	0.100
12	13.789	Y=23.296X-4.725	1.0000	6.25~100	0.032	0.100

注: 组分编号与峰号一致, 见 2.1.1。下同。

2.2.2 精密度和稳定性 在上述色谱条件下, 同一混合标准液连续进样 5 次以考查方法精密度, 记录各色谱峰的保留时间及峰面积; 取同一混合标准品溶液, 分别于 0、4、8、16 和 24 h 测定以考查方法稳定性, 得出各色谱峰的保留时间与峰面积 (表 2)。精密度试验显示, 所有组分的保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD) 分别小于 0.105% 与 4.076%; 稳定性试验显示, 所有组分的保留时间和峰面积的 RSD 分别小于 0.105% 与 5.953%。由此表明所建立的 HPLC 法具有良好的精密度; 且混合标准液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.3 回收率 取已知含量的茶样 1 份, 分别添加浓度不等的混合标准液 3 份, 按上述色谱条件进样分析, 测定茶样添加前后各标准品含量 (表 2)。

结果表明, 各标准品的平均回收率在 97.767% ~ 104.766%, RSD 均在 2.233% 以下, 符合检测方法对回收率的要求。

2.2.4 茶样测定 绿茶、红茶、肉桂、水仙、铁观音、黄金桂 6 个茶样均按“1.2.3”方法提取, 采用上述色谱条件分析, 得色谱图, 并依据峰面积值计算各组分含量。茶样中 12 个组分的 HPLC 图及含量情况依次见图 6 与表 3。由图 6 可知, 该色谱条件下, 茶样中的 12 个待测组分都能得到较好分离。从表 3 看出, 绿茶与 4 个乌龙茶茶样中, 儿茶素约占干物质总量的 7.427% ~ 10.416%, CAF 占 1.413% ~ 2.255%; 红茶中儿茶素含量极低, 仅占干物质总量的 0.738% 左右, CAF 约占 0.833%。

表 2 精密度、稳定性与回收率试验
Table 2 Tests on accuracy, stability and recovery rate

(单位/%)

组分编号	精密度 RSD		稳定性 RSD		回收率(n=3)	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	平均值	RSD
1	0.028	0.352	0.103	2.646	103.708	1.053
2	0.045	4.076	0.087	1.087	99.426	1.450
3	0.050	0.453	0.067	0.513	97.767	1.542
4	0.091	1.607	0.105	5.953	104.766	0.849
5	0.091	0.750	0.061	1.783	102.638	0.636
6	0.065	0.432	0.036	1.803	103.754	0.946
7	0.105	0.056	0.092	3.844	99.124	1.260
8	0.058	0.112	0.041	2.046	98.523	1.543
9	0.097	0.164	0.068	1.517	99.241	1.551
10	0.098	0.111	0.060	0.695	103.929	1.381
11	0.070	0.230	0.059	1.426	100.921	0.674
12	0.067	0.410	0.068	1.236	98.641	2.233

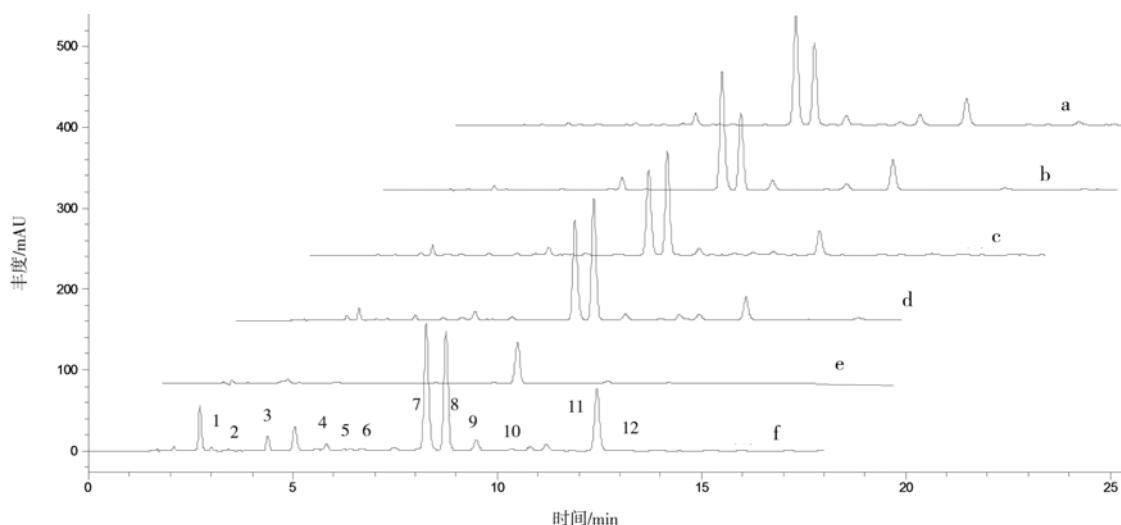


图 6 茶样中 12 组分的 HPLC

Fig. 6 HPLC of 12 components in teas

注: a 为黄金桂, b 为铁观音, c 为水仙, d 为肉桂, e 为红茶, f 为绿茶。

表 3 茶样中各组分含量
Table 3 Content of 12 components in teas

[单位/(mg·g⁻¹), n=3]

组分编号	绿茶	红茶	肉桂	水仙	铁观音	黄金桂	组分编号	绿茶	红茶	肉桂	水仙	铁观音	黄金桂
1	0.308	0.503	1.455	1.232	0.222	0.255	7	38.528	0.815	41.814	34.281	48.305	46.023
2	1.443	1.874	2.104	1.865	1.411	3.532	8	14.406	8.329	22.549	18.696	14.128	15.551
3	1.043	0.205	0.876	0.343	0.229	0.331	9	4.179	0.461	4.435	4.631	6.459	6.385
4	13.836	3.372	26.637	24.000	36.526	37.051	10	1.160	ND	2.165	1.938	1.144	1.530
5	0.510	0.205	0.334	0.381	0.258	0.344	11	14.612	0.466	7.617	7.769	9.844	8.905
6	0.322	ND	0.302	0.033	0.159	0.046	12	ND	0.184	0.405	0.307	0.210	0.345

注: ND 指未检测到。

3 讨论与结论

Zorbax SB-C18 与 TSKgel ODS-100Z 2 种色谱柱对 12 个组分的分离情况有所差异。2 种色谱柱尺寸、填料种类及其粒径相同，且均为 C18 柱，但 Zorbax SB-C18 所能承受的柱温与 pH 范围更广，因此其适用性更广泛；TSKgel ODS-100Z 则含有更高的碳载量和更大的比表面积，具有分辨率高的特点，对分子量较小化合物的分离能达到最大的保留和更好的分离选择性^[13]。因此与 Zorbax SB-C18 相比，TSKgel ODS-100Z 色谱柱能更好地分离出没食子酸、8 种儿茶素、3 种生物碱等 12 个组分。

流动相 pH 值对色谱峰形有一定影响。低 pH 更有利于得到对称峰。本试验结果显示，与 pH4.0 相比，pH 2.5 时各组分色谱峰对称因子均在 1.0 左右，峰对称性良好，说明强酸环境能有效抑制色谱峰的拖尾，这与于海宁等^[8]的研究结果一致。此外，不同酸性 (pH 2.5~4.0) 条件下，GA (没食子酸) 峰面积大小不一致，推测与其稳定性有关。当溶液 pH 值升高时，没食子酸易发生水解，稳定性变差^[14]。王广娟^[15]研究认为，pH 对 GA 稳定性有显著性影响，此物质在酸性条件下稳定，随着 pH 值的增加稳定性逐渐下降，碱性条件下极不稳定。

综上可见，TSKgel ODS-100Z 色谱柱可用于茶叶中没食子酸、儿茶素类及生物碱含量的分析检测，其最优色谱条件为：以 2% 甲酸水溶液 (A 相) 和甲醇 (B 相) 为流动相，洗脱方式为 83% A (0 min) → 75% A (5 min) → 73% A (7 min) → 58% A (16 min) → 83% A (18 min)，柱温为 40℃，流速为 1.0 mL · min⁻¹，检测波长为 280 nm。该方法可在 18 min 同时分析茶叶中的 12 个组分，所用流动相组成简单，因此具有简便、快速、高效、成本低等特点。

参考文献：

- [1] 揭国良. 普洱茶抗氧化作用及减肥作用的研究 [D]. 杭州：浙江大学，2008.
- [2] 宁正祥, 赵谋明. 绿茶提取物降血脂及清除活性氧自由基作用的研究 [J]. 营养学报, 1992, 14 (4): 414—415.
- [3] BARBOSA D S. Green tea polyphenol compounds and human health [J]. Journal of Consumer Protection and Food Safety, 2007, 2 (4): 407—413.
- [4] ZAVERI N T. Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer application [J]. Life Science, 2006, 78 (18): 2073—2080.
- [5] 戴军, 王洪新, 陈尚卫, 等. 茶叶及茶多酚中儿茶素的高效液相色谱分析方法研究 [J]. 色谱, 2001, 19 (5): 398—402.
- [6] MIZUKAMI Y, SAWAI Y, YAMAGUCHI Y. Simultaneous analysis of catechins, gallic acid, strictinin, and purine alkaloids in green tea by using catechol as an internal standard [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55 (13): 4957—4964.
- [7] WANG Y Y, YANG X R, LI K K, et al. Simultaneous determination of theanine, gallic acid, purine alkaloids, catechins, and theaflavins in black tea using HPLC [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2010, 45 (6): 1263—1269.
- [8] 于海宁, 沈生荣, 骞荣春, 等. 茶多酚中儿茶素类的 HPLC 分析方法学考察 [J]. 茶叶科学, 2001, 21 (1): 61—64.
- [9] 廖夫生. HPLC 法同时测定茶叶中 4 种儿茶素类成分 [J]. 中国茶叶, 2008, 30 (9): 24—25.
- [10] HU B, WANG L, ZHOU B, et al. Efficient procedure for isolating methylated catechins from green tea and effective simultaneous analysis of ten catechins, three purine alkaloids, and gallic acid in tea by high-performance liquid chromatography with diode array detection [J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216 (15): 3223—3231.
- [11] 中国国家标准化管理委员会. GB/T8313-2002 茶 茶多酚测定 [S]. 北京：中国标准出版社，2002：1.
- [12] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 8313-2008 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的测定方法 [S]. 北京：中国标准出版社，2008：1.
- [13] 仪器信息网. 东曹(上海)生物科技有限公司[EB/OL]. <http://www.instrument.com.cn/netshow/SH101626/Q1326226.htm>.
- [14] 吴雪钗, 于波涛, 侯艾林, 等. 没食子酸稳定性研究 [J]. 西南国防医药, 2006, 16 (5): 484—485.
- [15] 王广娟. 五倍子没食子酸的提取、纯化及抑菌效果研究 [D]. 保定：河北农业大学，2010.

(责任编辑：林海清)