

# 高效液相色谱法测定茶叶中可可碱和茶碱含量

LC-313

**摘要：** 本文利用 Nexera-i LC-2040C 一体式高效液相色谱仪，参考现行标准 NY/T 3631-2020《茶叶中可可碱和茶碱含量的测定 高效液相色谱法》，建立了茶叶中可可碱和茶碱含量的测定方法。实验结果显示可可碱在 1-100 mg/L、茶碱在 0.1-10 mg/L 的浓度范围内线性关系良好，相关系数均达到 0.9990。标准品溶液重复进样 6 次，峰面积的 RSD% 均小于 3%，表明仪器精密度良好。加标回收率实验中，可可碱和茶碱的平均加标回收率在 88.1% 至 101.9% 之间。可可碱和茶碱的检出限分别为 0.5 mg/kg 和 0.5 mg/kg，定量限分别为 1.5 mg/kg 和 10 mg/kg。该方法简单方便，能够有效的检测茶叶中可可碱和茶碱的含量。

**关键词：** 高效液相色谱仪 茶叶 可可碱 茶碱

生物碱是一类于植物体内广泛存在的含氮杂环的碱性天然有机物，其中绝大部分具有重要的医疗价值。可可碱和茶碱是天然甲基黄嘌呤类生物碱，具有能够使中枢神经系统、心脏和骨骼肌兴奋，血管达到舒张状态、平滑肌得到松弛和利尿等生理作用。二者母体结构相同，但甲基取代基的位置存在差异。可可碱与茶碱分别为 3,7 位和 1,3 位的二甲基取代，二者为同分异构体。作为一类具有显著生物活性作用的生物碱，

可可碱和茶碱普遍存在于茶叶、咖啡、可可和糖果等食品中。因此，在茶叶及其他产品的质量管控中，测定可可碱和茶碱的含量是十分必要的。

本文参考 NY/T 3631-2020《茶叶中可可碱和茶碱含量的测定 高效液相色谱法》，采用岛津 Nexera-i LC-2040C 进行分析，该方法灵敏度高、重复性好，可用于茶叶中可可碱和茶碱含量的测定，为茶叶质量保证提供借鉴。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

Nexera-i LC-2040C 一体式高效液相色谱仪

### 1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack GIS -C18 (250×4.6 mm I.D., 5 μm)

岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 227-30017-08

流动相 A：乙腈

进样体积：10 μL

流动相 B：0.5% 甲酸水溶液

柱温：40°C

流速：1 ml/min

检测波长：271 nm

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 93%，时间程序如表 1 所示

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
initial	泵	B Conc	93
15.00	泵	B Conc	93
15.10	泵	B Conc	75
20.00	泵	B Conc	75
20.10	泵	B Conc	93
30.00	控制器	Stop	

## ■ 样品前处理

按照 NY/T 3631-2020 《茶叶中可可碱和茶碱含量的测定 高效液相色谱法》标准中的样品前处理步骤进行处理，如图 1 所示。

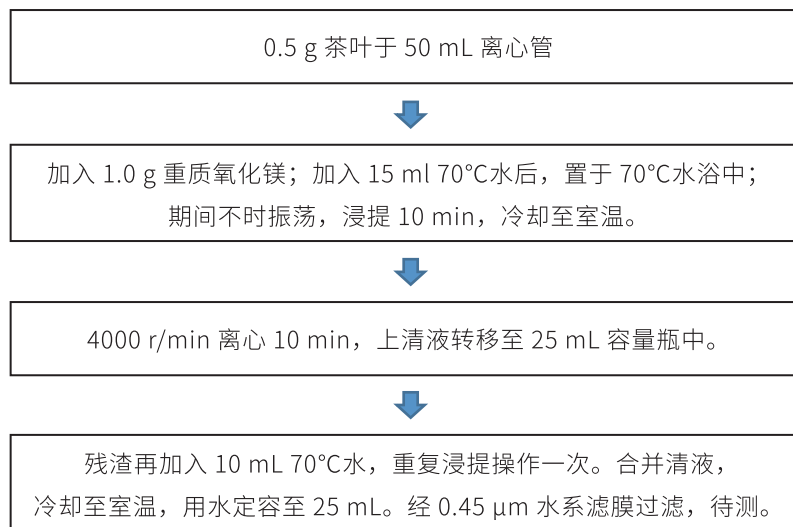


图 1 样品前处理流程图

## ■ 结果与讨论

### 3.1 标样色谱图

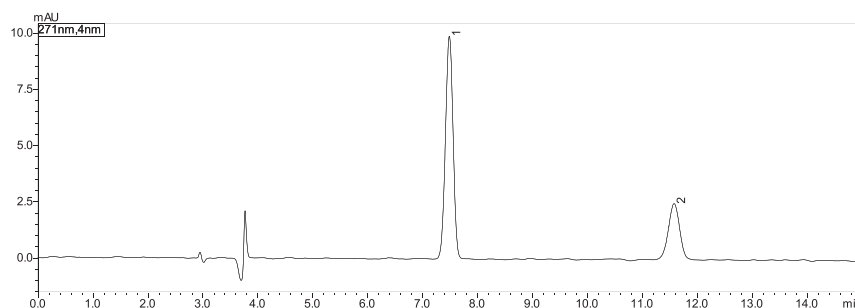


图 2 可可碱（10 mg/L）和茶碱（1 mg/L）标准品色谱图

（1. 可可碱 2. 茶碱）

表 2 化合物信息

No.	中文名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)
1	可可碱	Theobromine	83-67-0	7.494
2	茶碱	Theophylline	58-55-9	11.587

### 3.2 标准曲线和检出限

分别配制 1、5、10、25、50、100 mg/L 的可可碱和 0.1、0.5、1、2、5、10 mg/L 的茶碱混合标准溶液，取 10  $\mu$ L 进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做标准曲线，如图 3 所示。根据最低浓度点标样数据，以 3 倍信噪比计算方法检出限，以 10 倍信噪比计算方法定量限，各化合物检出限、定量限以及线性相关系数如表 3 所示。

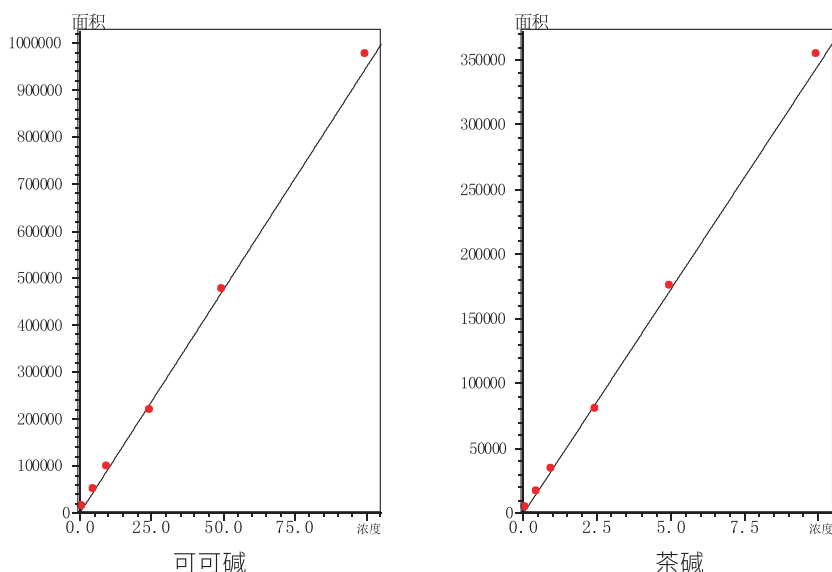


图3 可可碱和茶碱标准曲线

表3 各组分相关系数及检出限

No.	组分名称	方程	相关系数 (R)	准确度 (%)	检出限 (mg/kg)	定量限 (mg/kg)
1	可可碱	$y=9496.64x+380.542$	0.9991	90.7-109.0	0.5	1.5
2	茶碱	$y=34768.1x-924.646$	0.9993	92.2-112.2	0.5	1.0

### 3.3 重复性实验

按照 1.2 分析条件，取可可碱 5 mg/L、茶碱 0.5 mg/L 浓度水平标准溶液，重复进样 6 次，考察仪器重复性，测定结果见表 4。从表 4 结果可以看出，在不同浓度下其峰面积的 RSD% 均小于 3%，表明 LC-2040 液相色谱仪具有良好的重复性。

表4 标样峰面积重复性结果 (n=6)

No.	名称	峰面积						RSD(%)
		1	2	3	4	5	6	
1	可可碱	47015	46785	46665	46176	46614	46363	0.64
2	茶碱	15445	15034	15092	14797	15042	14414	2.29

### 3.4 实际样品测试

取某茶叶样品，按前述样品前处理步骤进行处理，上机检测得样品中可可碱浓度为 12.304 mg/L，茶碱未检出，则可可碱在样品中的含量为 615.2 mg/kg。茶叶样品色谱图如下图 4 所示。

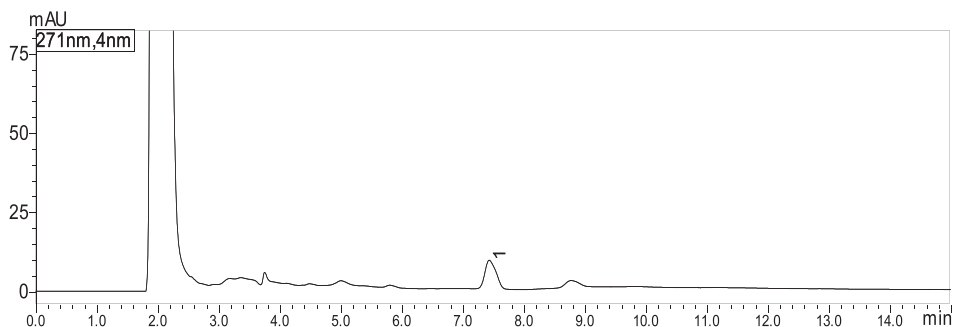


图4 茶叶样品色谱图

### 3.5 加标回收测试

取 0.5 g 某茶叶样品，并对实际样品进行低中高浓度加标实验，可可碱的理论加标浓度分别为 250 mg/kg，1250 mg/kg 和 2500 mg/kg；茶碱的理论加标量分别为 25 mg/kg，125 mg/kg 和 250 mg/kg。重复处理 3 次，取三次平行测定结果的平均值评估回收率，加标回收结果见表 5。

表 5 加标回收测试结果

No.	化合物	含量 (mg/kg)	理论加标含量 (mg/kg)	测定含量 (mg/kg)			RSD (%)	平均回收率 (%)
				1	2	3		
1	可可碱	615.2	250	841.7	833.2	831.7	2.45	88.1
			1250	1890.5	1886.6	1876.4	0.57	101.5
			2500	3159.1	3156.0	3139.9	0.41	101.5
2	茶碱	N.D.	25	23.1	23.5	22.2	2.93	91.6
			125	126.7	127.4	128.0	0.51	101.9
			250	258.6	257.6	258.7	0.24	103.3

\*N.D. 未检出

## ■ 结论

采用岛津 Nexera-i LC-2040C 一体式高效液相色谱仪，参考现行标准 NY/T 3631-2020《茶叶中可可碱和茶碱含量的测定 高效液相色谱法》建立了茶叶中可可碱和茶碱含量的测定方法。在一定浓度范围内可可碱和茶碱标准曲线的线性相关系数均大于 0.999。精密度测定结果表明可可碱和茶碱峰面积 RSD% 值均小于 3%，重复性良好。低、中、高加标实验中，可可碱和茶碱的平均加标回收率范围在 88.1% 至 101.9% 之间。检测结果表明线性、重复性、检出限等均满足标准相关要求，且该方法操作简单、灵敏度高、重复性好，可用于茶叶中可可碱和茶碱含量的测定。

#### 【参考文献】

[1] NY/T 3631-2020《茶叶中可可碱和茶碱含量的测定 高效液相色谱法》

[2] 王琳. 茶叶中有效生化成分高效液相色谱检测法的建立及其在凤凰乌龙茶检测中的应用. 南京农业大学, 2010.

岛津应用云

