

# Application News

## No. L525

高效液相色谱法

### 利用集成型 LC 系统 Prominence™-i 的自动前处理功能对绿茶中的氨基酸进行分析

绿茶自古以来就是比较贴近生活的饮料，近年来作为健康食品也备受关注。绿茶所含的氨基酸中最多的是茶氨酸<sup>1)</sup>。茶氨酸是绿茶主要的甜味成分，可减轻紧张感而且有助于睡眠，在功能方面也期待各种效果。绿茶中还含有很多茶氨酸以外的甜味成分和有益于健康而备受关注的成分。

在此，着重关注煎茶和培茶中的甜味成分茶氨酸和谷酰胺酸 (Glu)、以及有益于健康的成分精氨酸 (Arg) 和  $\gamma$ - 氨基酪酸 (GABA) 4 种成分。本文使用集成型 LC 系统 Prominence™-i (以下，简称 Prominence-i) 中配备的自动前处理功能，利用邻苯二甲醛 (OPA) 衍生化并进行分析。

Y. Osaka

#### ■ 自动前处理功能

Prominence-i (LC-2030C) 标准配备有自动采样器的自动前处理功能，模板中准备了“稀释”“添加”“同时注入”3 个模式。在此介绍使用“同时注入”的事例。同时注入能从多个样品瓶中按指定的顺序吸取样品，能使其混合，并设定等待时间。图 1 中所设定内容的动作如图 2 所示。如此，即使是不断吸取化学试剂的动作，也能进行简单设定。

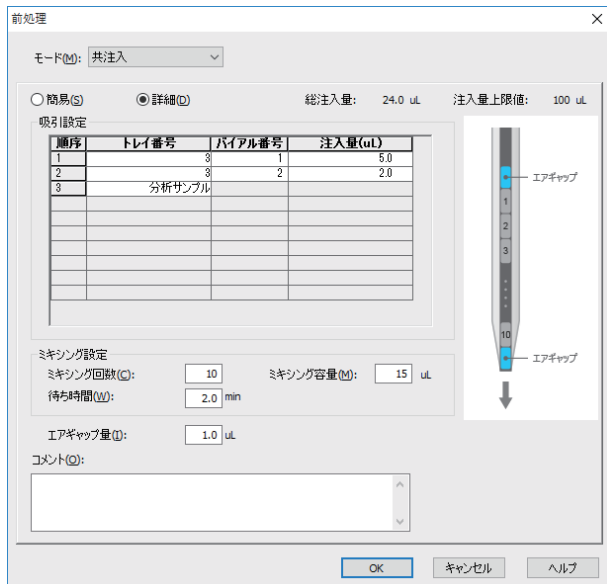


图 1 Prominence-i (LC-2030C) 的前处理 (同时注入) 设定界面

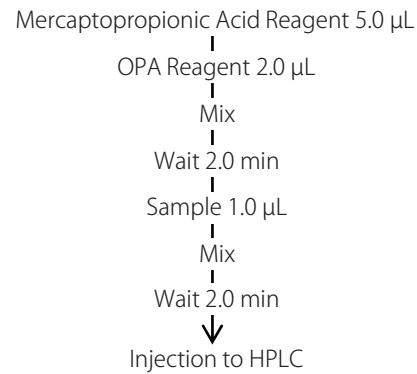


图 2 利用 Prominence-i 进行自动前置色谱柱衍生化的流程

表 1 衍生物化学试剂

- Mercaptopropionic Acid Reagent  
Add 10  $\mu$ L of 3 - mercaptopropionic acid into 10 mL of 0.1 mol/L borate buffer.
- OPA Reagent  
Add 0.3 mL of ethanol into 10 mg of *o*- phthalaldehyde and dissolve completely. Then add 0.7 mL of 0.1 mol/L borate buffer and 4 mL of ultrapure water.

#### ■ 成分的提取

绿茶根据提取的温度、涩味和香味不同。一般情况下，玉露等高级绿茶为了抑制涩味而在低温下提取，而主要品味为香味的培茶则在高温下提取。本文中，1g 茶叶中加入 20、40、60、80、95 $^{\circ}$ C 的水 50mL，手动搅拌提取 30 秒。使用 0.1mol/L 盐酸水溶液，对煎茶进行了 10 倍稀释，培茶进行了 5 倍稀释。

#### ■ 分析结果

分析条件如表 2 所示。在 95 $^{\circ}$ C 下提取的煎茶和培茶的色谱如图 3 所示。

表 2 分析条件

Column	: Shim-pack™ GIST C18 100 mmL. $\times$ 3.0 mmI.D., 3.0 $\mu$ m
Guard column	: 10 mmL. $\times$ 3.0 mmI.D., 3.0 $\mu$ m
Mobile phase	: A) 20 mmol/L Potassium phosphate buffer (pH6.5) B) Water/Acetonitrile/Methanol = 150/450/400
Flow rate	: 1.0 mL/min
Time program	: B Conc. 5 % (0 min) $\rightarrow$ 40 % (7 min) $\rightarrow$ 98 % (7.5 min)
Column temp.	: 25 $^{\circ}$ C
Injection volume	: 1 $\mu$ L
Detection	: Fluorescence detector (Ex. 350 nm, Em. 450 nm)

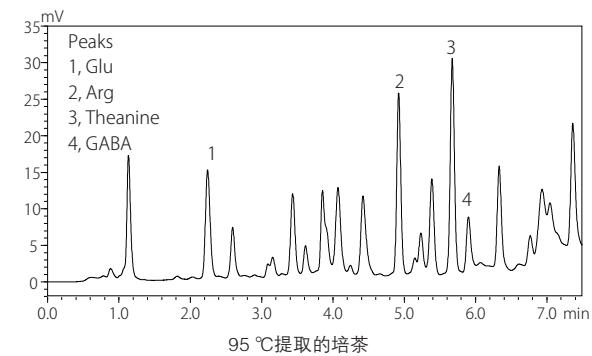
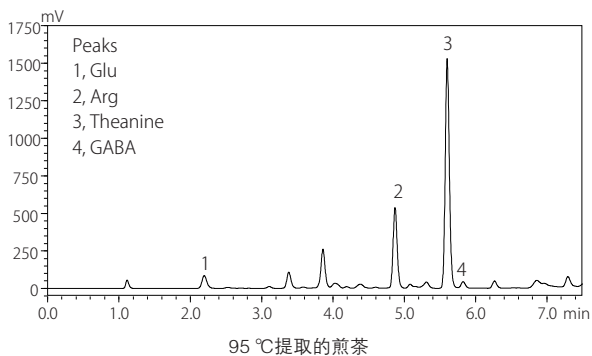


图3 煎茶和培茶的色谱

## 标准曲线的线性

按照表2的条件分析,标准品的浓度如表3所示。各成分的标准曲线如图4所示。各组分得判定系数R<sup>2</sup>=0.999以上,均得到了良好的线性。

表3 各成分的标准曲线的线性

Compound	Calibration Point (μmol/L)
Glu/Arg/GABA	0.5, 1.0, 5.0, 10, 50
Theanine	0.5, 1.0, 5.0, 10, 50, 100

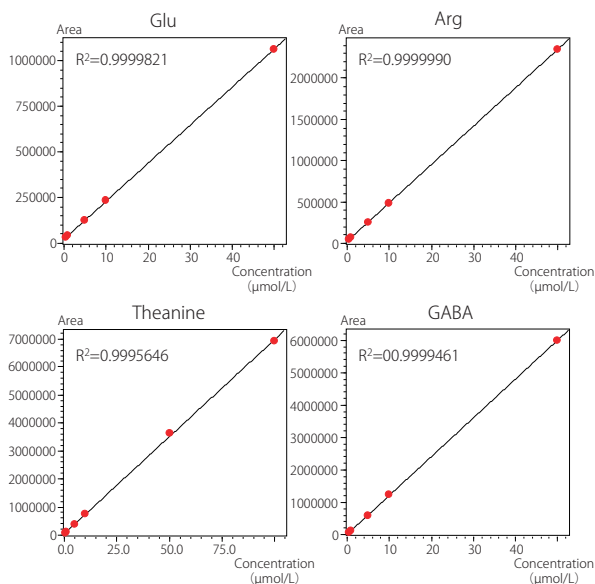


图4 各组分标准曲线

## 定量结果

使用以上标准曲线计算了煎茶和培茶中的浓度(μg/mL)。其结果如图5和图6所示。一般来说,煎茶甜味浓,培茶香味浓,已明确煎茶中含有大量的茶氨酸和谷酰胺酸。

据报道以甜味为主的玉露最好在60°C左右提取,从该结果来看,95°C时提取的茶氨酸更多。而且,具有涩味的物质温度越高越易提取<sup>2)</sup>,从该结果可知,60°C左右是抑制涩味,提出甜味最适合的温度。

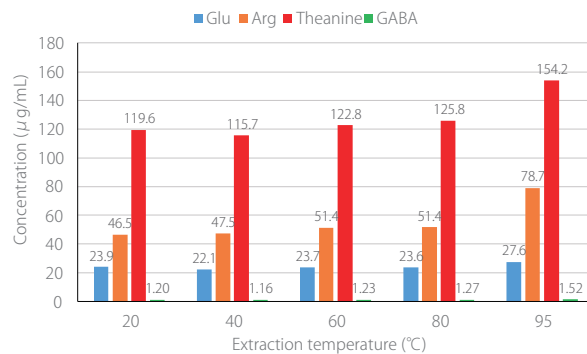


图5 各温度下煎茶的提取结果

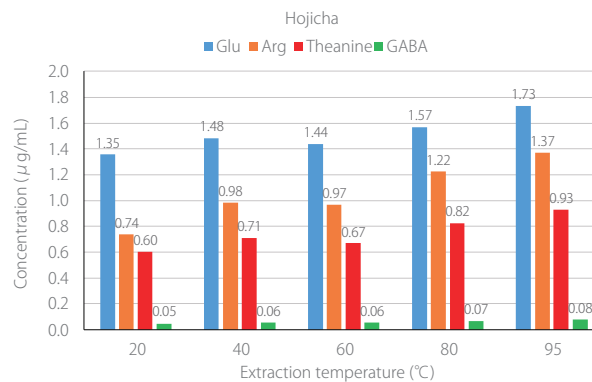


图6 各温度下培茶的提取结果

## 总结

如上所示,使用 Prominence-i 的自动前处理功能,能简单地进行柱前在线衍生氨基酸分析。由于在针(样品环形回路)内进行衍生化反应,所以不需要准备用于反应的进样瓶。并且,反应的样品全部导入色谱柱,所以,与在进样瓶内混合相比,该法可用少量的样品进行高灵敏度分析。

### [参考文献]

- 1) 石垣幸三, 生物与化学 19卷5号(1981) 278 - 285
- 2) 池田重美, 茶业研究报告书 37号(1972) 69 - 78

Prominence 以及 Shim-pack 是岛津制作所株式会社的商标。



岛津企业管理(中国)有限公司  
岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

### 免责声明:

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;  
\* 本资料中的所有信息仅供参考,不予任何保证。  
如有变动,恕不另行通知。

第一版发行日: 2018年3月