

双进样液相分析系统同时测定茶叶中茶氨酸与茶黄素含量

LC-448

摘要： 本文使用岛津双进样液相分析系统建立了快速测定茶氨酸与茶黄素含量的分析方法。L-茶氨酸与四种茶黄素在 5-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，各物质线性相关系数均大于 0.999，精确度在 92.7%~109.0% 之间，线性良好；稳定性考察中，各目标组分的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.43%~0.79% 和 1.32%~2.01% 之间，仪器精密度良好；对红茶样品进行回收率考察，结果显示各化合物的样品加标回收率在 88.5%~106.8% 之间，满足标准测试要求。该方法使用双进样液相色谱系统可以缩短分析时间，提高工作效率；使用 Peakintelligence™ 色谱峰智能算法，无需设置积分参数，即可自动、快速、准确完成目标物的色谱峰积分。

关键词： 双进样液相色谱仪 茶黄素 茶氨酸 Peakintelligence™

技术特点：

- ❖ 双进样系统平行双流路设计可实现多种不同性质物质的同时分析，节省分析时间。
- ❖ 使用 Peakintelligence™ 智能积分功能，无需设置积分参数，避免积分临近的干扰峰。

茶黄素是一类具有抗氧化和清除自由基，并且具有多种生理活性的物质。常见形态包括：茶黄素 TF1、茶黄素 TF-3-G、茶黄素 TF-3'-G、茶黄素 TFDG；它们可以抑制脂质过氧化和自由基的形成，从而有效地防止心血管疾病、癌症、辐射伤害和慢性炎症的发生；此外，茶黄素还能够有效清除自由基，减少细胞伤害。茶氨酸是一种氨基酸，茶氨酸是日本研究人员早在 1950 年从玉露绿茶中发现的一种氨基酸，能够散发出绿茶的香味成分。茶氨酸已被应用到许多食品和饮料产品中。

近年来，茶氨酸的抗压作用和睡眠质量提升效果渐渐受到关注，在临床上可用于治疗神经衰弱、脑动脉硬化、偏头痛等疾病。

本文参考《GB 1886.378-2024 食品安全国家标准 食品添加剂 茶黄素》与《GB/T 23193-2017 茶叶中茶氨酸的测定 高效液相色谱法》，使用岛津双进样液相分析系统建立了同时分析茶氨酸与茶黄素含量的液相分析方法。在原方法的基础上进行了相应优化，在保证分离度的同时有效缩短了分析时间，可为相关从业人员提供参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 双进样液相分析系统，具体配置为：

输 液 泵：	LC-40B XR、 LC-40D XR (LPGE)	检 测 器：	SPD-40、 SPD-M40
脱 气 机：	DGU-405×2	系统控制器：	CBM-40
自动进样器：	SIL-40C XR	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.97
柱 温 箱：	CTO-40C		

Nexera LC-40 双进样系统有两个独立的流路，分别进样，并同时在不同的条件下对两个系统进行分析。本实验采用流路一进行茶氨酸分析，流路二进行茶黄素分析。

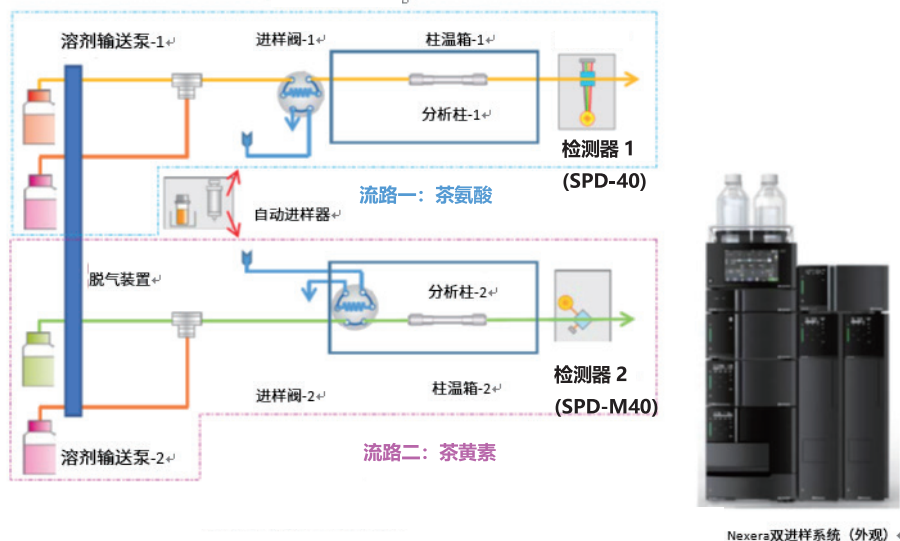


图 1 Nexera LC-40 双进样液相分析系统流路图

1.2 分析条件

液相色谱条件 1: (第一组: L- 茶氨酸物质分析色谱条件)

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 (HSS) (250 mm×4.6 mm I.D, 5.0 μm)
岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30017-08

流 动 相 : A 相 - 水; B 相 - 乙腈

流 速 : 1.0 mL/min 柱 温 : 35°C

进 样 体 积 : 10 μL 波 长 : 210 nm

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 5%, 时间程序见表 1。

表 1 第一组梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
10	Pump	B.Conc	50
12	Pump	B.Conc	80
20	Pump	B.Conc	80
22	Pump	B.Conc	5
35	Control	Stop	

液相色谱条件 2: (第二组: 茶黄素类物质分析色谱条件)

色 谱 柱 : Shim-pack Scepter C18-120 [Metal free] (100 mm×2.1 mm I.D, 3.0 μm)
岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-31073-02

流 动 相 : A 相 -0.1% 磷酸水溶液; B 相 - 乙腈

流 速 : 0.4 mL/min 柱 温 : 35°C

进 样 体 积 : 10 μL 波 长 : 273 nm

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 10%, 时间程序见表 2。

表 2 第二组梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.5	Pump	B.Conc	17.5
25	Pump	B.Conc	25
25.5	Pump	B.Conc	50
29.5	Pump	B.Conc	50
30	Pump	B.Conc	17.5
35	Control	Stop	

1.3 标准品及样品制备

1.3.1 校准曲线制备

第一组：参照 GB/T 23193-2017 测定法，精密称取 L- 茶氨酸标准品 10 mg，置 10 mL 量瓶中，使用纯水溶解并稀释至刻度，摇匀，作为储备液；再用纯水作为稀释剂分别稀释成 5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作溶液。

第二组：参照 GB 1886.378-2024 测定法，精密称取四种茶黄素标准品各 10 mg，置 10 mL 量瓶中，使用稳定溶液 * 溶解并稀释至刻度，摇匀，作为储备液；再用稳定溶液 * 作为稀释剂分别稀释成 5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作溶液。

* 稳定溶液：分别移取 50 mL EDTA 溶液（10 mg/mL）、50 mL L- 抗坏血酸溶液（10 mg/mL）以及 175 mL 乙腈溶剂，用纯水定容至 1000 mL（临用新制）。

1.3.2 样品前处理

第一组：参照 GB/T 23193-2017 测定法，称取某品牌红茶 1.0 g，加入纯水 100 mL，置于 100°C 水浴中加热提取 30 min，移取全部提取液后用纯水定容至 100 mL，过 0.45 μm 滤膜后上机分析。

第二组：参照 GB 1886.378-2024 测定法，称取某品牌红茶 1.0 g，加入稳定溶液 * 并定容至 100 mL，超声提取 20 分钟，取上清液过 0.45 μm 滤膜后上机分析。

■ 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

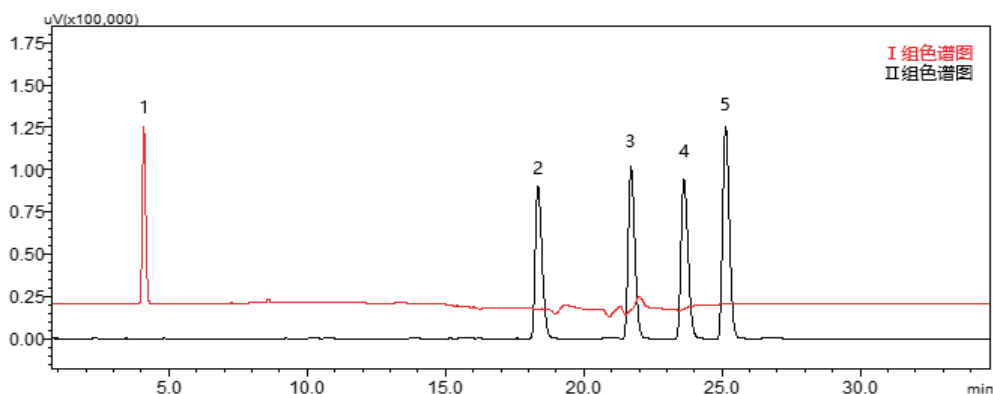


图 2 标准品溶液色谱图（10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）

（1.L- 茶氨酸、2. 茶黄素 TF1、3. 茶黄素 TF-3-G、4. 茶黄素 TF-3'-G、5. 茶黄素 TFDG）

2.2 校准曲线

将不同浓度的标准品溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立校准曲线，结果如图 2 所示。茶氨酸和茶黄素物质在 5.0~200.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，线性相关系数均大于 0.999，准确度 92.7%~109.0%，具体结果见表 3。

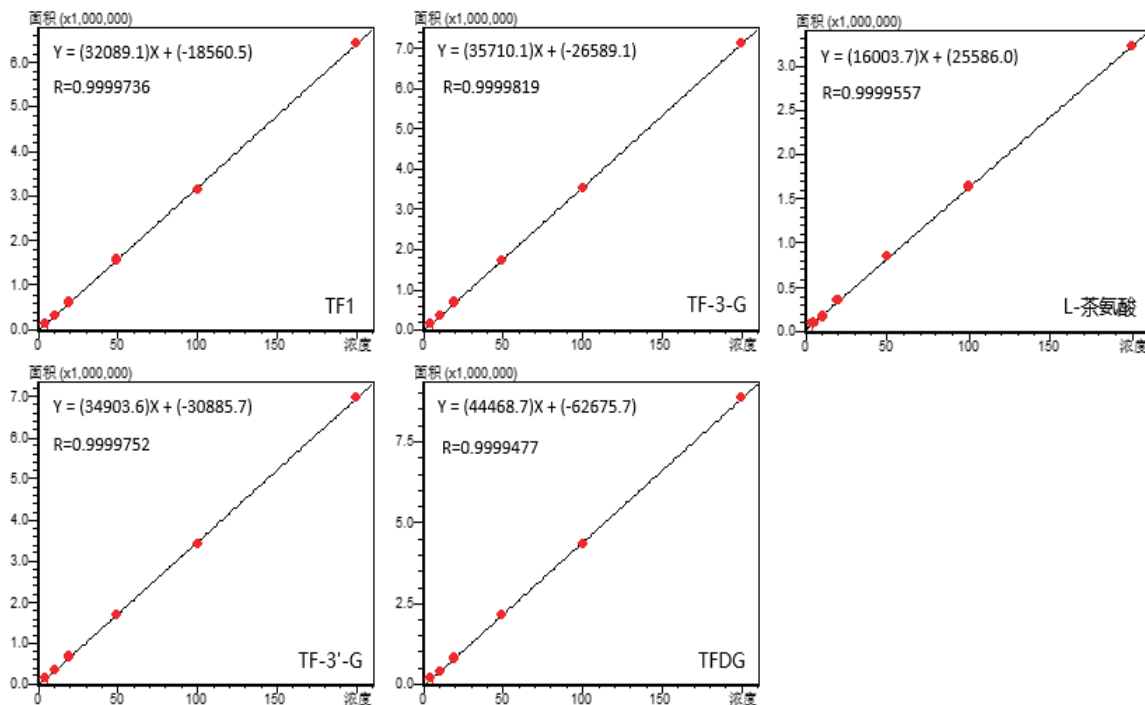


图 3 化合物的校准曲线

表 3 校准曲线结果

No.	化合物名称	保留时 (min)	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 r	准确度 (%)
1	L- 茶氨酸	4.09	5-200	0.9999	92.7~109.0
2	TF1	18.41	5-200	0.9999	96.0~102.1
3	TF-3-G	21.65	5-200	0.9999	93.7~105.9
4	TF-3'-G	23.63	5-200	0.9999	93.3~100.3
5	TFDG	25.20	5-200	0.9999	94.6~101.0

2.3 精密度

取不同浓度的标准品溶液，（两组浓度均为：10 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ ）连续进样 6 次，用于考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.43%~0.79% 和 1.32%~2.01% 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

NO.	化合物	RSD% (10 $\mu\text{g/mL}$)		RSD% (50 $\mu\text{g/mL}$)		RSD% (100 $\mu\text{g/mL}$)	
		保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	L- 茶氨酸	0.68	1.32	0.55	1.71	0.54	1.33

2	TF1	0.47	1.39	0.46	1.45	0.79	1.39
3	TF-3-G	0.43	1.47	0.47	2.01	0.68	1.61
4	TF-3'-G	0.52	1.36	0.57	1.39	0.61	1.46
5	TFDG	0.49	1.81	0.63	1.48	0.53	1.65

2.4 加标回收率测试

取某品牌红茶样品，按照 1.3.2 和 1.3.3 中处理方法，分别配置样品溶液和加标回收率溶液，使用 1.2 中分析条件进行上机，样品及加标回收率测定结果见表 5。样品的平均加标回收率结果在 88.5%~106.8% 之间，可以满足标准测试要求。

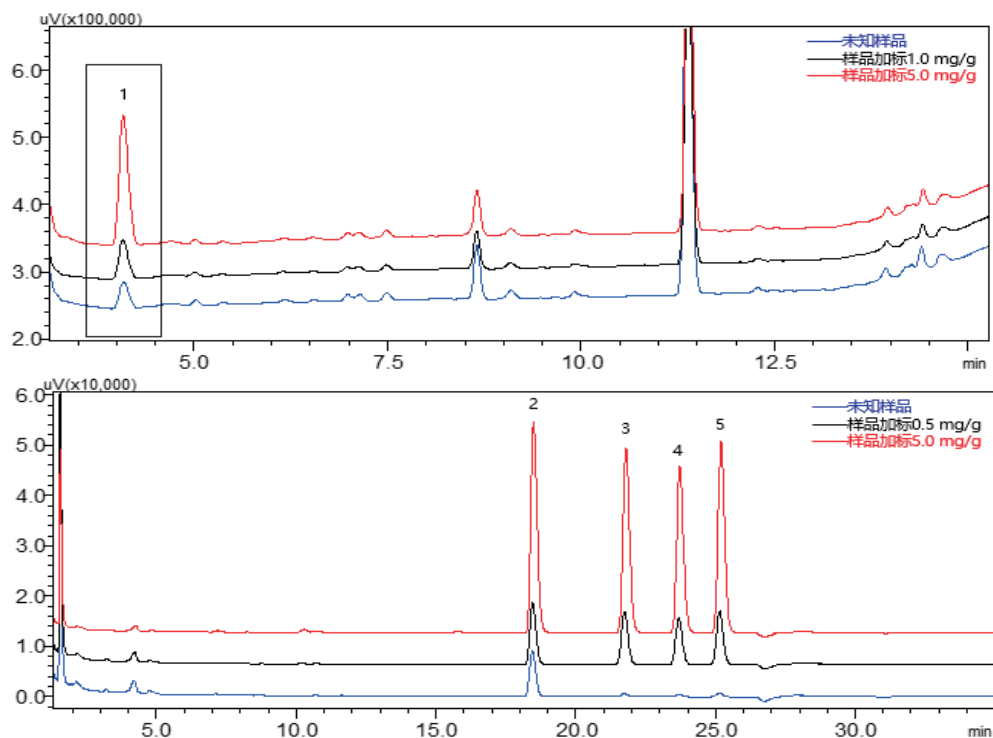


图 4 实际样品测试结果
(第一组：茶氨酸样品及样品加标色谱图；第二组：茶黄素样品及样品加标色谱图)

表 5 加标回收率结果 (n=3)

NO.	化合物名称	样品平均含量 (mg/g)	加标样 1		加标样 2	
			加标量 (mg/g)	平均回收率 (%)	加标量 (mg/g)	平均回收率 (%)
1	L- 茶氨酸	2.16	1.0	92.7	5.0	94.3
2	TF1	0.64	0.5	99.4	5.0	106.8
3	TF-3-G	< 0.5*	0.5	93.6	5.0	92.2
4	TF-3'-G	< 0.5*	0.5	92.1	5.0	88.5
5	TFDG	< 0.5*	0.5	90.8	5.0	92.0

注：* 表示低于定量下限 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (0.5 mg/g)。

2.5 Peakintelligence™ 智能积分

本实验色谱图积分处理是使用 Peakintelligence_LC_V1 色谱峰智能算法。无需设置任何积分参数，即可自动、快速、准确完成目标物的色谱峰积分，智能积分会准确识别目标物前后的干扰峰，有效保证了积分结果的准确性。

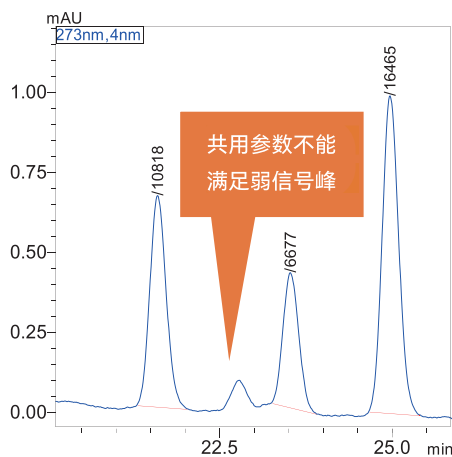


图5 普通积分结果

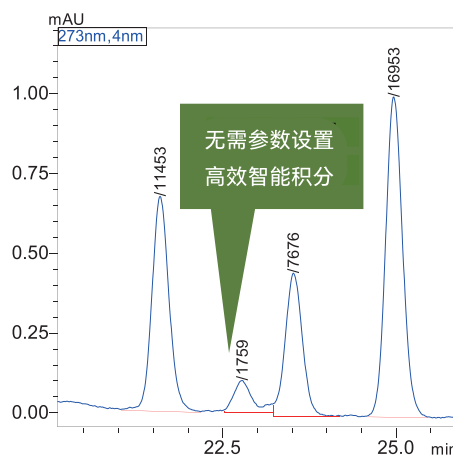


图6 智能积分结果

■ 结论

本文使用岛津双进样液相色谱仪建立了同时测定红茶中 L- 茶氨酸与四种茶黄素物质的分析方法，实验结果表明：在考察的线性范围内，线性良好；低中高标准溶液重复进样 6 次，仪器重复性良好；样品的加标回收率在 88.5%~106.8% 之间，方法准确可靠。双进样液相分析系统测定 L- 茶氨酸与茶黄素含量的分析方法配合 Peakintelligence™ 智能积分软件，可以同时应对《GB/T 23193-2017 茶叶中茶氨酸的测定 高效液相色谱法》与《GB 1886.378-2024 食品安全国家标准 食品添加剂 茶黄素》；实现了一机两用，缩短分析时间，提高工作效率；并且可以为红茶营养成分的研究工作提供参考。

岛津应用云

