6:12 的比例加入海狸鼠脂肪酸、尿素和甲醇充分反应后，先于 4℃冰箱中冷藏 8h，再于 -20℃冰箱中放置 12h。这样分步降温，并维持较长的低温时间，有利于把溶于甲醇中的尿素充分再结晶出来，能进一步提高 γ-亚麻酸等多不饱和脂肪酸在浓缩物中的含量。

3.2 利用含 5% 硝酸银的硅胶 G 薄层板，展开剂采用苯:甲醇:冰醋酸为 9:0.4:0.4(V:V:V) 的混合试剂，10% 磷钼酸乙醇溶液为显色剂，可以把 γ-亚麻酸从包和样品中完全分离开，达到快速检测样品中 γ-亚麻酸的目的。本文介绍的方法，简单易行，适合在实验室中操作。若能将活化的硝酸银硅胶 G 填料应用于层析柱，并摸索出柱层析分离 γ-亚麻酸的最适条件及配套的检测手段，将是 γ-亚麻酸提取纯化较经济较简便的技术操作。

3.3 本研究中采用的 HPLC 法，条件温和，适于极性的、低挥发性及对热敏感的化合物的分离检测。我们建立的 γ-亚麻酸的 HPLC 法以乙腈和水为洗脱剂进行梯度洗脱，242nm 紫外检测，此法快速、重复性及准确度均令人满意，故用来分离制备海狸鼠 γ-亚麻酸，能够取得很好的效果。这为海狸鼠 γ-亚麻酸的大量制备和进行生化与药理等方面的研究奠定了重要的基础，将使其具有更广阔的应用开发前景。

参考文献

1 Huang Y S et al. Biochem Med Metab Biol, 1994, 5(1): 27.

2 De Kock M et al. Prostaglandins. Leukotrienes Essent Fatty Acids, 1996, 55(6): 403.

3 Jiang W G et al. Int J Oncol, 1996, 9(2): 279.

4 周立新，黄凤洪等. α-亚麻酸与 γ-亚麻酸. 西部粮油科技, 2000(6): 46.

5 武丽萍. 微孔草资源的开发与研究. 中国油脂, 1994(5): 41~43.

6 赵人俊. 月见草油 γ-亚麻酸富集研究. 中国粮油学报, 1995, 10(2): 44~47.

7 Traitler H. Fractionation of blackcurrant seed oil. J Am Oil Chem Soc, 1988, 65(5): 755~760.

8 Yokochi T. Increase in the γ-linolenic acid content by solvent winterization of fungal oil extracted from mortierella genus. J Am Oil Chem Soc, 1990, 67(11): 846~851.

9 Sanguk Kim, Wonyoung Lee, Sangdo Yeo et al. Dioxide extraction of perilla Oil. Foods and biotechnology, 1996, 5(4): 300~304.

10 R Wood T Lee. J Chromatogr, 1983, 237~246.

11 翁新楚，董新伟，任国谱. 脲包法在脂类分离技术中的应用. 中国油脂, 1994, 19(6): 40.

12 叶非，王静等. 气相色谱法分析不同提取条件的海狸鼠油脂成分. 色谱, 1996, 14(1): 56.

13 N E Bussell et al. Biological/Biomedical Applications of Liquid Chromatography (Chromatographic Science Series, Vol. 10). Marcel Dekker, New York. 1979, 57~89.

绿茶及其茶饮料中茶多酚的光谱分析

T527 A

侯冬岩 回瑞华 关崇新 刘晓媛 鞍山师范学院化学系 鞍山 114005

摘 要 采用三波长-光谱法测定绿茶及其茶饮料中茶多酚的含量，有效地消除了随浓度不同发生的本底漂移及吸收峰不对称给定量分析造成的影响，并校正了基于干扰组分(添加剂)的吸收光谱具有线形吸收产生的基线倾斜。本法的回收率为 95.2% ~102.0%，变异系数小于 1.05%。方法的准确度与精密度均令人满意，而且操作简便易行。

关键词 茶多酚 绿茶及其茶饮料 三波长-光谱法

Abstract Determination of catrchin in green teas and tea beverages was by carried out wavelength spectrophotometry to ellmlnate the absorbance error of interferlng cpmponents. turbld solutlon and the scattering effect. The Back-ground change with concentration change and asymmetrlc absorptlon and the problems could be solved also. The method was more advantageous than trandltlonal spectrophotometry method. The tecoverwas 95.2% ~102.0% and the coefficlent of varlation was 1.05%.

Key words Catechln Natural tea and tea beverages Three wavelength spectrophotometry

茶多酚又叫茶单宁，茶鞣质，是茶叶中酚类及其衍生物的总称。绿茶中的茶多酚含量为20%～30%，主要包括儿茶素，黄酮醇及其配糖物，无色花色素，酚酸及缩酚酸，其中以儿茶素最多，占茶多酚总量的65%～80%。茶多酚具有很强的抗氧化能力。茶叶中含有丰富的茶多酚，因而引起国内外有关专家的关注，已有不少研究结果发表[1]，但多侧重于茶多酚的抗氧活性及药理方面的研究。本文则是着重于茶多酚分析方法的研究，茶叶及茶饮料中茶多酚的测定通常采用光谱法[2]，但由于吸收峰不对称，给定量分析造成影响。本文采用三波长光谱法测定绿茶及绿茶饮料中茶多酚的含量，结果令人满意。

1 实验部分

1.1 仪器与实验材料

北京普析通用仪器有限责任公司的TU－1201紫外可见分光光度计，上海亚容生化仪器厂；Magna 550傅立叶变换红外光谱仪，美国尼高力仪器公司；HP－5988气相色谱/质谱联用仪，美国惠普公司。

茶多酚标样：由鞍山师范学院化学系回瑞华教授等人研制[3]，经高压液相色谱，红外光谱，质谱法测定为茶多酚。

绿茶，绿茶饮料样品：由辽宁生物技术科学股份有限公司提供。

酒石酸亚铁溶液：称取1.000g七水硫酸铁和5.000g四水酒石酸钾钠，用水溶解后定容至1L；pH7.5的磷酸盐缓冲液：茶多酚标准储备液：称取0.06g（标准至0.0001g），置于100ml的容量瓶中，加水使其溶解稀释至刻度，摇匀备用；（所用试剂均为分析纯，水为蒸馏水）。

1.2 吸收曲线的绘制及三波长的确定

准确吸取茶多酚标准储备液1ml，注入25ml容量瓶中，加入4ml和酒石酸亚铁溶液5ml；充分混合后再加pH7.5的磷酸盐缓冲液至刻度，用1cm的比色皿在波长200～900nm范围内扫描，绘制出其吸收曲线（图1），用作图法确定出三个测定波长分别为$\lambda_1=879$nm，$\lambda_2=544$nm，$\lambda_3=427$nm。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线的绘制

分别取0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0ml的茶多酚标准储备液，注入25ml容量瓶中，加水4ml和酒石酸亚铁溶液5ml960充分混合后再加pH7.5的磷酸盐缓冲液至刻度，用1cm的比色皿在波长200～900nm范围内扫描，绘制出△A值随茶多酚浓度变化的吸收曲线（图2）

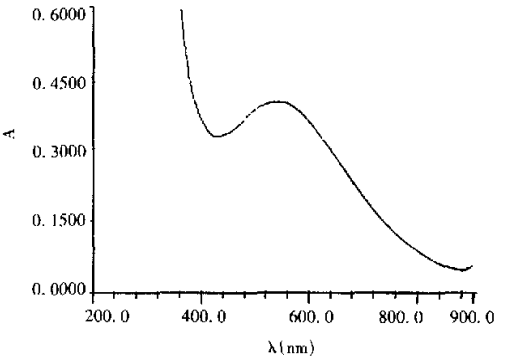

图1 吸收曲线

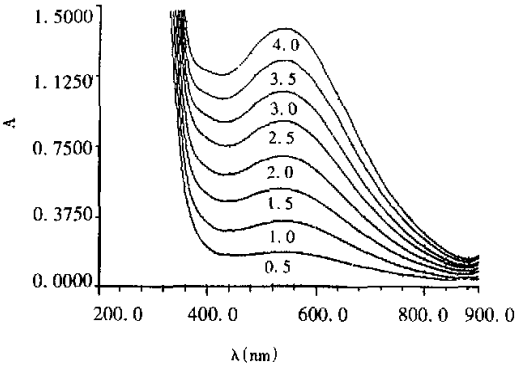

图2 △A值随茶多酚浓度变化的吸收曲线

并在其波长为$\lambda_1=879$nm，$\lambda_2=544$nm，$\lambda_3=427$nm分别测定其吸光度值并且给出△A值，结果见表1。

求得△A与浓度关系的回归方程为

$$\triangle A=-0.016+5.61\times10^{-4}C$$

根据△A与浓度关系可绘制出线性很好的标准曲线。求得相关系数$\gamma=0.9999$，经查表得临界相关系数$\gamma_{(99\%,n-2)}=0.9170$，$\gamma>\gamma_{(99\%,n-2)}$，说明茶多酚的浓度在0～960（μg/ml）范围内，分别在波长为$\lambda_1=879$nm，$\lambda_2=544$nm，$\lambda_3=427$nm处测吸收光度时，则△A与浓度C之间呈良好的线性关系，可按标准曲线法进行定量分析。

2.2 稳定性实验

用与绘制吸收曲线配制相同的方法配制的样品进行稳定性实验，结果表明：样品放置4h以上，测得其吸光度值不变。

2.3 酸度影响

表1 回收率及方法精密度

样品浓度(μg/ml)	加标量(μg/ml)	测定值(n=9)(μg/ml)	测定平均值(μg/ml)	平均回收率(%)	标准偏差(10^{-3}μg/ml)	变异系数(%)
120.0	120.0	239.2~241.6	240.3	100.3	0.86	0.36
240.0	120.0	360.0~362.5	361.2	101.0	0.91	0.25
360.0	120.0	479.2~483.3	482.5	102.0	1.55	0.32
480.0	120.0	594.1~598.5	596.1	96.8	1.60	0.26
600.0	120.0	709.8~718.2	714.3	95.2	7.53	1.05

表2 △A值与茶多酚浓度的关系

标样浓度(μg/ml)	120.00	240.00	360.00	480.00	600.00	720.00	840.00	960.00
△A	0.0512	0.1163	0.1750	0.2449	0.3152	0.3867	0.4566	0.5331

同时吸取1ml茶多酚标准溶液，分别置7只25ml容量瓶中，再依次加入水4ml和酒石酸亚铁溶液5ml和不同量的NaOH（0.1mol/L），在不同pH值条件下，分别测定其吸光度值并且给出△A值，结果说明在pH7.0~8.0之间吸光度值稳定，因此选定在pH7.5条件下进行测定。

2.4 显色剂用量的影响

吸取1ml茶多酚标准液于10只25ml容量瓶中，加入不同量的显色剂（酒石酸亚铁溶液），再加pH7.5的磷酸盐缓冲液，分别测定其吸光度值并且给出△A值，结果说明显色剂用量在4.0~6.0ml范围，吸光度基本不变，因此选定显色剂用量在5ml条件下进行测定。

2.5 回收率及方法精密度

根据前面确定的测试条件，按上述实验方法制备5个不同浓度的样品，按标准加入标准物，在测定波长先测定△A，求得其平均回收率、标准偏差及变异系数，结果列于表1。

2.6 样品分析

取不同产地的绿茶、不同品种的绿茶饮料，按上述实验方法制备样品溶液，按操作条件，在测定波长处测其吸光度，分析结果列于表2。

由表1可以看出本法的回收率为95.2%~102.0%，变异系数小于1.05%，方法的准确度与精密度均较高。由于△A值与茶多酚的浓度成正比，在所选择的三个波长处，其相应的吸收光谱线上三点在一条直线上，有效地消除本底漂移及吸收峰不对称给定量分析造成的影响[4~6]，因此三波长-光谱法为测定绿茶及其茶饮料中茶多酚的含量提供了更准确更可行的方法。

由表3可以看出，不同产地的绿茶中茶多酚的含量是有一定差异的。

表3 绿茶及绿茶饮料中茶多酚的分析结果

样品	名称	编号	测定结果
饮料(μg/ml)	柠檬绿茶(心品)	20020108	506.9
		20020125	506.9
		20020203	506.9
	蜂蜜绿茶(心品)	20011211	721.5
		20020122	721.9
		20020125	721.2
茶叶(μg/ml)	1'绿茶		256.0
	2'绿茶		7256.0

参考文献

1 于新蕊、曲军、丛月珠．茶叶的化学成分及药理作用研究进展．中草药，1995，26(4)：219~221.

2 中华人民共和国国家标准．GB/T8313-87.

3 回瑞华，侯冬岩，李铁纯．绿茶化学成分的研究．鞍山师范学院学报，2002，4(1)：42~45.

4 Hui R H, Hou D Y, Hui Y L. Quantitave determination of beraxinate hydrochloride by three wavelength spectrophotomatry. Chemical research in Chinese universtities, 1994, 10(4): 297~300.

5 回瑞华，侯冬岩．三波长-光谱法测定利福平的含量．光谱学与光谱分析，1995，15(5)：95~98.

6 侯冬岩，回瑞华，佟健．三波长-紫外光谱法测定黄芩中总黄酮的含量．特产研究，1995，2(2)：47~50.