

## ВЭЖХ ЧАСТИЧНО ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СОРТОВ ЧАЯ

© 2007 Р.В. Шафигулин, А.В. Буланова<sup>1</sup>

В работе были исследованы частично ферментативные сорта чая методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Идентифицированы катехины, содержащиеся в чайных экстрактах и определено их количественное содержание.

### 1. Введение

Разнообразные фенольные соединения чрезвычайно широко распространены в растениях. Способность к их образованию и накоплению является характерной чертой растительных организмов. Они присутствуют во всех высших и в большинстве низших растениях. Большое количество полифенолов содержится в чайном листе и эта группа составляет наиболее ценную часть зеленого чайного листа и представлена в основном катехинами ( флавонол – 3 – олами) и их галловыми эфирами [1]. Чайный лист содержит 7 кристаллических катехинов: 4 простых – ( $\pm$ )катехин и (-)эпикатехин, ( $\pm$ )галлокатехин, (-)эпигаллокатехин; 3 сложных галлированных катехина: (-)эпикатехингаллат, (-)эпигаллокатехингаллат и ( $\pm$ )галлокатехингаллат. Во всех частях молодого чайного побега по количеству преобладают эпикатехингаллат и эпигаллокатехингаллат. В зависимости от степени ферментативной обработки содержание катехинов уменьшается при одновременном резком снижении количества эпикатехингаллата и эпигаллокатехингаллата [2]. Катехины чая нейтрализуют действие свободных радикалов и тем самым защищают организм от заболеваний. Самым активным из катехинов является эпигаллокатехингаллат (EGCG). Его антиоксидантные свойства во много раз сильнее, чем у витаминов Е и С. Комплекс катехинов и природного витамина С является мощным антиоксидантом, который вступает в реакции почти со всеми свободными радикалами, вызывающими онкологические заболевания, и защищает от них генетический аппарат клеток [3, 4]. Целью настоящей работы было определение качественного и количественного состава чая с частичной ферментацией на содержания в них катехинов.

<sup>1</sup>Шафигулин Роман Владимирович (shafiro@mail.ru), Буланова Анжела Владимировна, кафедра общей химии и хроматографии Самарского государственного университета, 443011, Россия, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

## 2. Экспериментальная часть

Объектами исследования явились частично ферментативные китайские чаи, произведенные в городе Яньцзы: оолонг (улун), красный, лунзцин, тегуанинь. Провели качественный и количественный хроматографический анализ образцов чая на содержание в них следующих катехинов: (-)эпигаллокатехингаллат (EGCG), (-)эпигаллокатехин (EGC), (-)эпикатехин (EC), (+)катехин ((+)C), (-)эпикатехингаллат (ECG). Стандартные образцы катехинов произведены фирмами Janssen Chimica и Sigma (USA) с чистотой 99%. Использовали ацетонитрил (ACN), уксусную кислоту, хлороформ, этилацетат квалификации ч.д.а., и бидистиллированную и предварительно ионизированную воду. Структуры молекул используемых стандартных катехинов приведены на рис. 1.

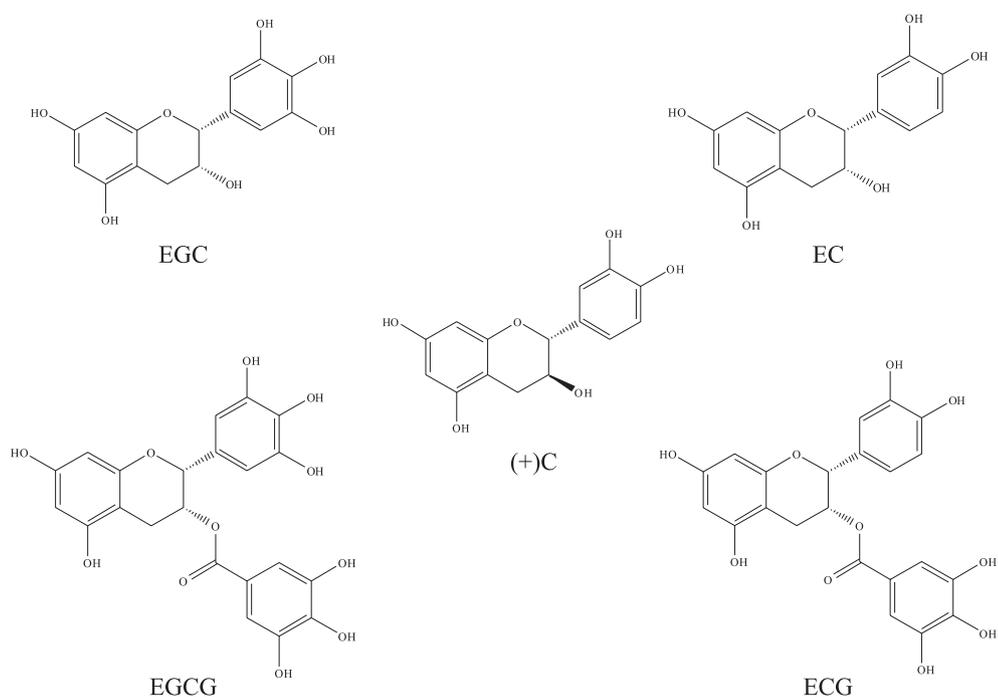


Рис. 1. Структура катехинов, содержащихся в чае

Экстракты чая готовили следующим образом: Навеску чая (2 г.) заливали дистиллированной водой и настаивали при  $50 \pm 5^\circ\text{C}$  в течении 4 часов при постоянном перемешивании. Полученный экстракт фильтровали с помощью бумажного фильтра для удаления чайной флешки. Фильтрат упаривали на вакуумном испарителе до 10 мл, затем смешивали его с 10 мл хлороформа и проводили жидкостно-жидкостную экстракцию. Хлороформную фракцию удаляли. Водный экстракт смешивали с 10 мл этилацетата и проводили жидкостно-жидкостную экстракцию. Водную фракцию удаляли. Этилацетатную фракцию использовали для дальнейшего хроматогра-

фического анализа. Эксперимент осуществляли на жидкостном хроматографе Waters (USA) с УФ детектором, при длине волны 280 нм. Применяли колонку Optimapark OP C18 (250×4,6 мм, диаметр частиц 5 мкм), объем вводимых проб 1 мкл. Скорость подвижной фазы 1 мл/мин. Элюирование проводили в градиентном режиме. В качестве органического модификатора подвижной фазы использовали ацетонитрил; рН элюента поддерживали постоянным, добавляя в него 0,1 мл уксусной кислоты. Создавали следующий градиентный режим: в течение 30 минут концентрация ацетонитрила линейно увеличивалась с 10% до 30%. Идентификацию компонентов проводили путем сравнения с аутентичными образцами веществ. Времена удерживания стандартных катехинов представлены в табл. 1.

Таблица 1

### Времена удерживания катехинов

Вещества	EGC	(+)C	EC	EGCG	ECG
Время удерживания, мин	11.05	13.59	17.55	18.09	25.19

Для количественного хроматографического анализа был использован метод абсолютной градуировки. При построении градуировочных зависимостей готовили растворы стандартов с концентрацией 500 ppm и вводили в хроматограф различные их объемы — 5, 10, 15, 20 мкл. Строили зависимости площади пика от абсолютной массы стандарта катехина в объеме вводимой пробы. На рис. 2 представлены градуировочные графики для стандартов исследуемых катехинов. В таблице 2 представлены уравнения, описывающие эти зависимости и коэффициенты корреляции. Из таблицы видно, что коэффициенты корреляции для калибровочных кривых достаточно высоки, что позволяет провести корректный количественный анализ. На рис. 3 представлены хроматограммы чайных экстрактов. Из рисунка видно, что разделение катехинов в данных условиях происходит удовлетворительно. Результаты количественного анализа представлены в табл. 3.

Таблица 2

### Результаты математической обработки градуировочных зависимостей

Компоненты	Уравнения регрессии	Коэффициент корреляции, R
EGC	$Y=297716X-67058$	0.999
(+)C	$Y=854825X-166504$	0.999
EC	$Y=580132X-44593$	0.999
EGCG	$Y=1174200X+111063$	0.998
ECG	$Y=1154090X-314950$	0.998

*Примечание.* Y — площадь пика; X — абсолютная масса.

Результаты математической обработки градуировочных зависимостей

Из результатов хроматографического анализа видно, что содержание катехинов в исследуемых сортах чая невелико, по сравнению с зеленым чаем.

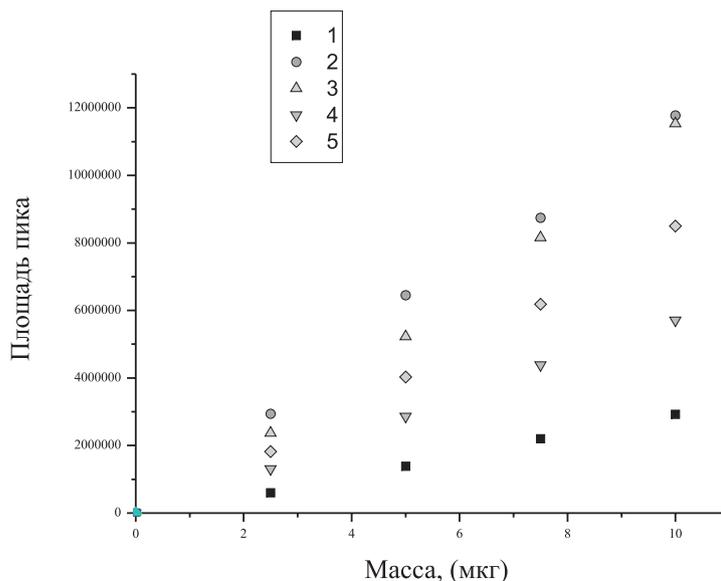


Рис. 2. Калибровочные зависимости стандартов исследуемых веществ. Принятые обозначения: 1 – EGC, 2 – (+)C, 3 – EC, 4 – EGCG, 5 – ECG

Таблица 3

Содержание катехинов в различных сортах чая

Сорт чая	Сухой остаток, мг/г					Общее количество катехинов, %
	EGC	EGCG	(+)C	EC	ECG	
Оолонг (улун)	1,91 ± 0,04	7,33 ± 1,56	1,58 ± 0,07	1,06 ± 0,01	3,25 ± 0,001	1,5
Лунзцин	0,79 ± 0,01	18,85 ± 1,07	3,92 ± 0,01	1,68 ± 0,01	8,46 ± 0,69	3,4
Красный	0,81 ± 0,01	0,62 ± 0,01	2,11 ± 0,02	0,48 ± 0,01	1,29 ± 0,01	0,5
Тегуанинь	1,80 ± 0,14	6,25 ± 0,10	1,77 ± 0,01	0,85 ± 0,01	2,77 ± 0,01	1,3

Очевидно, это связано с тем, что исследуемые чаи подвергаются ферментативной обработке с различной степенью ферментации. Красный чай является чаем с более высокой степенью ферментации, чем оолонг (улун), лунзцин и тегуанинь и в нем содержится меньше определяемых катехинов. В большей степени ферментативные процессы влияют на содержание двух биологически важных катехинов - эпигаллокатехингаллата и эпикатехингаллата. Из рис.3 видно, что оолонг, лунзцин и тегуанинь содержат большое количество эпигаллокатехингаллата и эпикатехингаллата, в отличие от красного чая в котором содержание данных компонентов значительно меньше. Таким образом можно сделать вывод, что во время фабричной переработки зеленых чайных листьев резко снижается общее содержание катехинов в чайном листе.

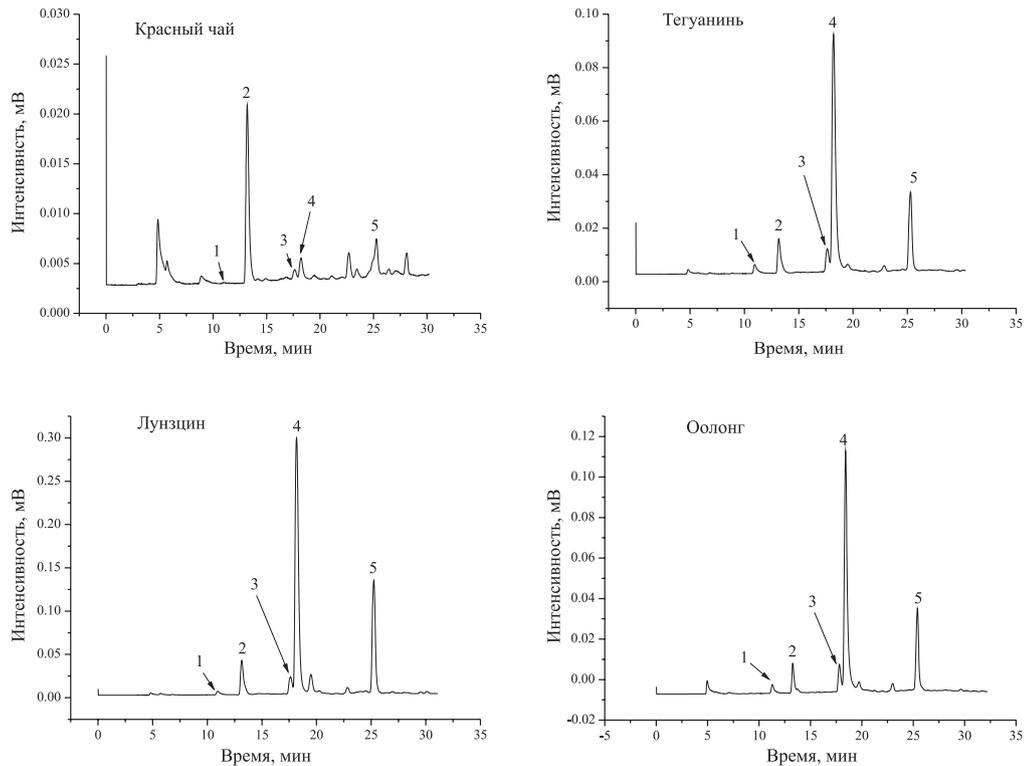


Рис. 3. Хроматограммы чайных экстрактов. Принятые обозначения: 1 – EGC, 2 – (+)C, 3 – EC, 4 – EGCG, 5 – ECG

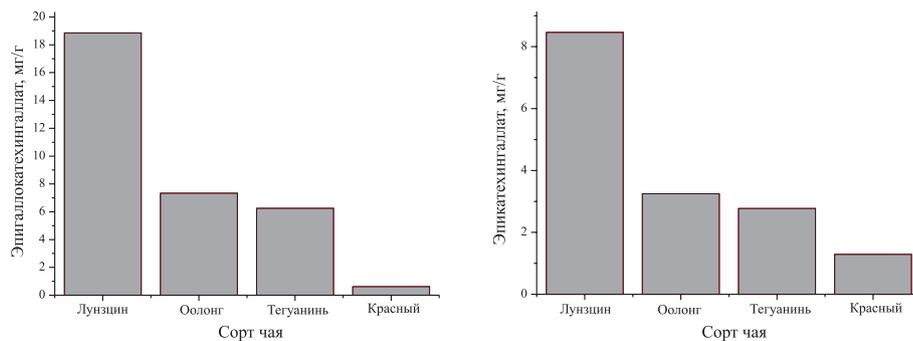


Рис. 4. Содержание эпигаллокатехингаллата и эпикатехингаллата в исследуемых образцах чая

## Литература

- [1] Блажей, А. Фенольные соединения растительного происхождения / А. Блажей, Л. Шутый. – М.:Мир, 1977. – 240 с.
- [2] Татарченко, И.И. Химия субтропических и пищевкусовых продуктов / И.И. Татарченко, И.Г. Мохначев, Г.И. Касьянов. – Москва: Академия,

2003. – 256 с.

- [3] Запрометов, М.Н. Биохимия катехинов / М.Н. Запрометов. – М.: Наука, 1964. – 294 с.
- [4] Middleton, E. / E. Middleton, C. Kandaswami, T. Theoharides // Pharmacological Rev. – 2000. – 52. – P. 673-751.

Поступила в редакцию 26/*VIII*/2006;  
в окончательном варианте — 26/*VIII*/2006.

## **PLC OF SEMI-FERMENTATED GRADES OF TEA**

© 2007 R.V. Shafigulin, A.V. Bulanova<sup>2</sup>

An reverse-phase HPLC method with gradient elution for the quantification of catechins in semi-fermentated grades of tea is developed.

Paper received 26/*VIII*/2006.  
Paper accepted 26/*VIII*/2006.

---

<sup>2</sup>Shafigulin Roman Vladimirovich ([shafiro@mail.ru](mailto:shafiro@mail.ru)), Bulanova Anzhela Vladimirovna, Dept. of Organic Chemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.