

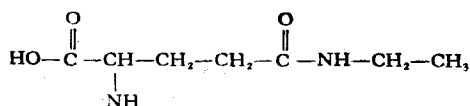
茶叶中茶氨酸的高压液相色谱的测定

朱 珩

(中国农业科学院茶叶研究所, 杭州)

茶氨酸 (Theanine acid) 主要存在于山茶科 (Theaceae) 植物中, 也是茶 [*Camellia sinensis* (L.) O. Ktze] 中含量较高的一种氨基酸, 占茶叶中游离氨基酸的 50—65% 左右。过去的资料认为除了茶以外只在一种蕈 (*Xeccomus badins*) 和茶梅 (*Camellia sasanqua*) 中有少量存在, 后来发现红山茶 (*Camellia japonica* Linn)、油茶 (*Camellia oleifera* Abed.) 等植物中均含有茶氨酸^[1,2], 只是数量上比茶少得多。茶芽中茶氨酸的含量比红山茶和油茶要高 30 倍。在适制绿茶的品种中尤为丰富。因此, 茶氨酸含量多少, 往往作为鉴别真假茶的重要依据。同时茶叶中茶氨酸含量高低, 可直接影响茶树的新陈代谢和茶叶品质, 与绿茶滋味等级具有强正相关。对于红茶茶汤滋味也有一定影响, 故精确测定茶氨酸的含量是十分重要的。

茶氨酸属酰胺类化合物, 化学上系统命名为 N-乙基-L-谷氨酰胺 (N-ethyl-L-glutamine) 其结构式如下:



自然界存在的茶氨酸均为 L 型, 纯品为白色针状结晶, 熔点为 217—218°C (分解), $[\alpha]_D^{20} = +7.0$ 极易溶于水, 而不溶于无水乙醇和乙醚; 水溶液呈微酸性, 具有焦糖香和类似味精的鲜爽味; 经盐酸水解后, 生成 L-谷氨酸和乙胺^[2], 用茚三酮显色, 呈紫色, 其发色强度与谷氨酸相似; 与碱式碳酸铜生成淡紫色柱状铜盐。根据这些特性可以从茶叶中分离出纯态茶氨酸。

茶叶中的和一般植物中的氨基酸, 研究方法有很多相同之处。但分离方法有其特殊性, 特别是对茶氨酸的分离, 更具有自身的特色。测定茶氨酸的方法较多, 以往常采用纸上层析、柱上层析、薄层扫描、凝胶电泳、氨基酸自动分析仪等。但这些方法常受茶汤中其它生化成分的干扰, 预处理又十分复杂, 因而影响分析结果的准确性。采用高压液相色谱法测定茶叶中的茶

佳。在 pH8.3 用逆转录酶进行反应, cDNA 第一链合成效率最高可达 70%, 一般均在 50% 以上。

(3) cDNA 第二链的合成可采用 RNaseH, DNA pol I 和 DNA 联结酶反应体系。此法的优点是合成效率高, 有可能达到 100%; 此外, 还省去碱解 mRNA 和 S_1 核酸酶水解两步, 不仅省时, 而且保证了大片段合成和 5' 末端的完整性。

用同样条件进行其它哺乳动物细胞和疟原虫 mRNA 分离及 cDNA 合成也获得较满意的结果。

参 考 文 献

- [1] Chirgwin, J. M. et al.: *Biochemistry*, 18, 5294—5299, 1979.
- [2] Maniatis, T. et al.: *Molecular Cloning*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1982.
- [3] Liew, C. C.: 个人交流, 1984.
- [4] BRL, AMV, 逆转录酶系统 I 资料, 1982.
- [5] Okayama, H. & Berg, P.: *Mol. Cell Biol.*, 27 161—170, 1982.
- [6] Watson, C. J. & Jackson, J.: in *DNA Cloning* (Glover, D. M. editor), Vol. 1, p 79—88, IRL Press. Oxford, 1985.
- [7] Gubler, U. & Hoffman, B. J.: *Gene*, 25, 263—269, 1983.

[本文于 1986 年 3 月 5 日收到]

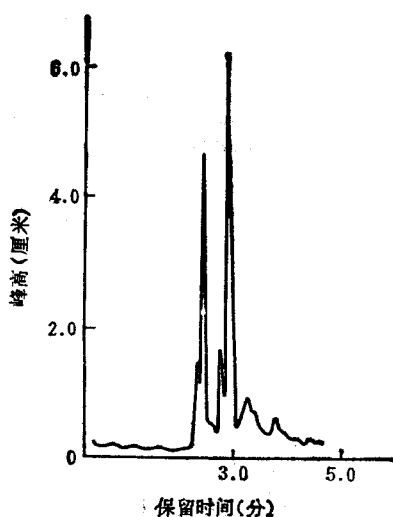


图1 茶氨酸 HPLC 图谱

氨酸,操作简便,精确性高,是目前比较理想的分析方法。在一定条件下用纯品茶氨酸作标准曲线,在线性范围内,根据峰高或峰面积即可换算出茶叶中茶氨酸的含量;最低检出量为0.1微克。

一、HPLC 分析条件

1. 仪器: PERKIn-ELMER SERIES 3B(美国 PE 公司)液相色谱仪。

分离柱: μ Bondapak-alkylphenyl C_{18} 4.6mm $\times$ 250mm。

试剂: A, R₂(均为国产)。

二、检测条件:

流动相: 0.1% 磷酸 (H_3PO_4),

流速: 1 毫升/分,检测波长: 240nm;

柱压: 15 兆巴,柱温: 25℃。

记录仪量程: 10 毫伏,纸速: 5 毫米/分。

进样量: 2—5 微升。

三、样品制备:

精确称取磨碎茶叶样 6 克,加沸水 150 毫升,浸泡 5 分钟,过滤;滤液再用 0.45 微米滤膜微孔过滤器过滤后,即可进样。所得图谱见图 1。

表 1 不同等级杭炒青茶氨酸含量(毫克/100 克干茶)

级 别	1	2	3	4	5
茶氨酸	1350	1020	860	660	520

图 1。

用 HPLC 分析不同等级杭炒青(浙江绿茶一种),结果见表 1。

从表 1 结果来看,不同等级茶叶中茶氨酸含量差异明显,其含量随着等级的降低和叶子老化而急剧递减,茶叶嫩度越高茶氨酸的含量也就越丰富,茶汤的色,香,味也愈好。

参 考 文 献

- [1] 程启坤等:《茶叶科学研究报告》,中国农业科学院茶叶研究所,1983。
- [2] 安徽农学院主编:《茶叶生物化学》,农业出版社, p78—84, 1980。
- [3] 津田藤二郎等: 茶業研究報告, 57: 83, 1983。

[本文于 1986 年 2 月 14 日收到]