

ICS 67.140.10  
X 04



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 30483—2013

## 茶叶中茶黄素的测定 高效液相色谱法

Determination of theaflavins in tea—High performance liquid chromatography

2013-12-31 发布

2014-06-22 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华全国供销合作总社提出。

本标准由全国茶叶标准化技术委员会(SAC/TC 339)归口。

本标准起草单位：中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院、国家茶叶质量监督检验中心。

本标准主要起草人：周卫龙、徐建峰、陆小磊、许凌、叶美君。

# 茶叶中茶黄素的测定 高效液相色谱法

## 1 范围

本标准规定了用高效液相色谱(HPLC)测定茶及茶制品中茶黄素含量的仪器、试剂、操作方法、结果计算。

本标准适用于茶及茶制品中茶黄素含量的测定,也适用于咖啡碱、儿茶素及没食子酸的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 8302 茶 取样

GB/T 8303 茶 磨碎试样的制备及其干物质含量测定

## 3 原理

茶叶磨碎试样中的茶黄素(儿茶素)用70%的甲醇溶液在70℃水浴上提取,速溶茶用热的10%乙腈溶解。茶黄素(儿茶素)的测定用 $C_{18}$ 柱、检测波长278 nm、梯度洗脱、HPLC分析,用茶黄素(儿茶素)标准物质外标法直接定量。

## 4 仪器

4.1 分析天平:感量0.0001 g。

4.2 水浴。

4.3 离心机:转速3 500 r/min。

4.4 混匀器。

4.5 高效液相色谱仪(HPLC):包含梯度洗脱及紫外检测器(检测波长278 nm)。

4.6 液相色谱柱: $C_{18}$ (粒径5  $\mu\text{m}$ ,250 mm $\times$ 4.6 mm)。

## 5 试剂

5.1 除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯(AR),水为蒸馏水。

5.2 乙腈:色谱纯。

5.3 甲醇。

5.4 冰乙酸。

5.5 70%甲醇水溶液(体积分数)。

5.6 10 mg/mL EDTA-2Na溶液:现配。

5.7 10 mg/mL 抗坏血酸溶液:现配。

5.8 稳定溶液:分别将25 mL EDTA-2Na溶液(5.6),25 mL 抗坏血酸溶液(5.7),50 mL 乙腈(5.2)加

入 500 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀。

### 5.9 液相色谱流动相

5.9.1 流动相 A:分别将 90 mL 乙腈(5.2),20 mL 冰乙酸(5.4),2 mL EDTA-2Na (5.6)加入 1 L 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀。溶液需过 0.45  $\mu\text{m}$  膜。

5.9.2 流动相 B:分别将 800 mL 乙腈(5.2),20 mL 冰乙酸(5.4),2 mL EDTA-2Na (5.6)加入 1 L 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀。溶液需过 0.45  $\mu\text{m}$  膜。

### 5.10 标准储备溶液

5.10.1 咖啡碱储备溶液:2.00 mg/mL。

5.10.2 没食子酸(GA)储备溶液:0.100 mg/mL。

5.10.3 儿茶素储备溶液:+C 1.00 mg/mL,EC 1.00 mg/mL,EGC 2.00 mg/mL,EGCG 2.00 mg/mL,ECG 2.00 mg/mL。

5.10.4 茶黄素储备溶液:TF 2.00 mg/mL,TF-3-G 2.00 mg/mL,TF-3'-G 2.00 mg/mL,TFDG 2.00 mg/mL。

5.11 标准工作溶液:用稳定溶液(5.8)配制。

标准工作溶液的浓度:没食子酸 5  $\mu\text{g/mL}$ ~25  $\mu\text{g/mL}$ 、咖啡碱 50  $\mu\text{g/mL}$ ~150  $\mu\text{g/mL}$ 、+C 50  $\mu\text{g/mL}$ ~150  $\mu\text{g/mL}$ 、EC 50  $\mu\text{g/mL}$ ~150  $\mu\text{g/mL}$ 、EGC 100  $\mu\text{g/mL}$ ~300  $\mu\text{g/mL}$ 、EGCG 100  $\mu\text{g/mL}$ ~400  $\mu\text{g/mL}$ 、ECG 50  $\mu\text{g/mL}$ ~200  $\mu\text{g/mL}$ 、TF 100  $\mu\text{g/mL}$ ~300  $\mu\text{g/mL}$ 、TF-3-G 100  $\mu\text{g/mL}$ ~300  $\mu\text{g/mL}$ 、TF-3'-G 100  $\mu\text{g/mL}$ ~300  $\mu\text{g/mL}$ 、TFDG 100  $\mu\text{g/mL}$ ~300  $\mu\text{g/mL}$ 。

## 6 操作方法

### 6.1 取样

按 GB/T 8302 的规定。

### 6.2 试样制备

按 GB/T 8303 的规定。

### 6.3 测定步骤

#### 6.3.1 干物质含量测定

按 GB/T 8303 的规定。

#### 6.3.2 供试液的制备

6.3.2.1 茶叶:称取 0.2 g(精确到 0.000 1 g)均匀磨碎的试样(6.2)于 10 mL 玻璃离心管中,加入在 70  $^{\circ}\text{C}$  中预热过的 70% 甲醇溶液(5.5)5 mL,用玻璃棒充分搅拌均匀湿润,立即移入 70  $^{\circ}\text{C}$  水浴(4.2)中,浸提 10 min(隔 5 min 搅拌一次),浸提后冷却至室温,转入离心机(4.3)在 3 500 r/min 转速下离心 10 min,将上清液转移至 10 mL 容量瓶。残渣再用 5 mL 的 70% 甲醇溶液提取一次,重复以上操作。合并提取液定容至 10 mL,摇匀(该提取液在 4  $^{\circ}\text{C}$  下可至多保存 24 h)。用移液管移取上述提取液 2 mL 至 10 mL 容量瓶中,用稳定溶液(5.8)定容至刻度,摇匀,过 0.45  $\mu\text{m}$  膜,待测。

6.3.2.2 速溶茶:称取 0.5 g(精确到 0.000 1 g)均匀的速溶茶于 50 mL 容量瓶,加入不高于 60  $^{\circ}\text{C}$  的水溶解,加 5 mL 乙腈(5.2)并用水定容至刻度,摇匀。用移液管移取上述提取液 2 mL 至 10 mL 容量瓶中,用稳定溶液(5.8)定容至刻度,摇匀,过 0.45  $\mu\text{m}$  膜,待测。



### 6.3.3 色谱条件

流动相流速:1 mL/min;柱温:35 ℃;紫外检测器: $\lambda=278$  nm。

梯度条件: 100%A 相保持 10 min

↓  
15 min 内由 100%A 相→68%A 相、32%B 相

↓  
68%A 相、32%B 相保持 10min;

↓  
100%A 相

### 6.3.4 测定

待流速和柱温稳定后,进行空白运行。准确吸取 10  $\mu$ L 混合标准系列工作液注入 HPLC。在相同的色谱条件下注射 10  $\mu$ L 测试液。测试液以峰面积定量。

## 7 结果计算

### 7.1 计算方法

茶叶中茶黄素(儿茶素、咖啡碱、没食子酸)含量以干态质量分数(%)表示,按式(1)计算:

$$\text{茶黄素(儿茶素、咖啡碱、没食子酸)含量} = \frac{A \times f_{\text{Std}} \times V \times d}{m \times 10^5 \times w} \times 100\% \quad \dots\dots(1)$$

式中:

$A$  ——所测样品中被测成分的峰面积;

$f_{\text{Std}}$  ——所测成分的校正因子(浓度/峰面积,浓度单位  $\mu\text{g/mL}$ );

$V$  ——样品提取液的体积,单位为毫升(mL);

$d$  ——稀释因子(通常为 2 mL 稀释成 10 mL,则其稀释因子为 5);

$m$  ——样品称取量,单位为克(g);

$w$  ——样品的干物质含量(质量分数),%。

### 7.2 茶黄素(儿茶素类)总量计算公式

茶黄素总量按式(2)计算:

$$\text{茶黄素总量} = \text{TF} + \text{TF-3-G} + \text{TF-3'-G} + \text{TFDG} \quad \dots\dots(2)$$

儿茶素总量按式(3)计算:

$$\text{儿茶素总量} = \text{EGC} + \text{C} + \text{EC} + \text{EGCG} + \text{ECG} \quad \dots\dots(3)$$

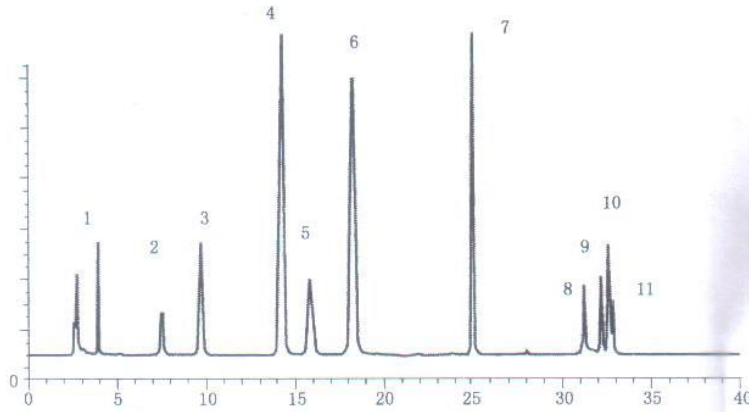
如果符合重复性(7.3),取两次测定的算术平均值作为结果,保留小数点后 2 位。

### 7.3 重复性

在重复条件下同一样品获得的茶黄素总量(儿茶素总量、咖啡碱含量,没食子酸含量)测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

附录 A  
(资料性附录)

儿茶素、茶黄素、咖啡碱和没食子酸标准样品液相色谱图



说明:

- 1 ——GA;
- 2 ——EGC;
- 3 ——C;
- 4 ——咖啡碱;
- 5 ——EC;
- 6 ——EGCG;
- 7 ——ECG;
- 8 ——TF;
- 9 ——TFDG;
- 10 ——TF-3-G;
- 11 ——TF-3'-G。

图 A.1 儿茶素、茶黄素、咖啡碱和没食子酸标准样品液相色谱图



GB/T 30483-2013

版权专有 侵权必究

\*

书号:155066 • 1-48897

定价: 14.00 元