

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 941—2025

六堡茶中茶红素、茶褐素的测定 紫外分光光度法

Determination of thearubigin and theabrownine in Liupao tea-
Ultraviolet spectrophotometry

2025 - 01 - 17 发布

2025 - 01 - 23 实施

广西标准化协会 发布

前 言

本文件参照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由梧州市食品药品检验所提出并宣贯。

本文件由广西标准化协会归口。

本文件起草单位：梧州市食品药品检验所、广西梧州圣源茶业有限公司、广西梧州芙叶茶叶股份有限公司、梧州市天誉茶业有限公司、广西速溶六堡茶工程技术研究中心。

本文件主要起草人：蒋德莉、何珊珊、陈启钊、钟水桥、文俊萍、罗达龙、陈婵、李君、覃蓝、王华、李夷君、黄琳、卓海琳、黄金福、韦燕娟、骆刚、宋好、冯成、黄胜广、黎志锐、戴永海。

六堡茶中茶红素、茶褐素的测定

紫外分光光度法

警示：实验操作过程使用的三氯甲烷具有一定毒性，分析人员在溶液配制和样品预处理过程时应按规定佩戴防护器具，避免接触皮肤和衣物。

1 范围

本文件规定了六堡茶中茶红素、茶褐素的紫外分光光度测定法。
本文件适用于六堡茶中茶红素、茶褐素的测定。
本方法规定了茶红素的定量限为0.2%，茶褐素的定量限为0.4%。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 8303 茶 磨碎试样的制备及其干物质含量测定

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

茶红素 Thearubigins

茶叶发酵产生的，存在于红茶中的一种橙褐色色素。

3.2

茶褐素 Theabrownin

儿茶素氧化聚合形成的一类能溶于水而不溶于乙酸乙酯和正丁醇的褐色色素。

4 原理

试样中茶红素和茶褐素经沸水提取后，茶红素加入三氯甲烷除杂后，分别用乙酸乙酯、正丁醇和酸化正丁醇进行液液萃取得到测试液，茶褐素用无水乙醇进行液液萃取得到测试液，茶红素于272nm、茶褐素于280nm处测定吸光度，根据标准曲线计算茶红素和茶褐素含量。

5 试剂及其配制

除非另有说明，所用试剂均为分析纯，实验用水应符合GB/T 6682中三级水的要求。

5.1 试剂和材料

5.1.1 无水乙醇(C₂H₅OH)。

5.1.2 三氯甲烷(CHCl₃)。

5.1.3 乙酸乙酯(C₄H₈O₂)。

5.1.4 正丁醇(C₄H₁₀O)。

5.1.5 盐酸(HCl)：质量分数36.0%~38.0%。

5.2 标准品

5.2.1 茶红素($C_{43}H_{34}O_{22}$, CAS:12698-96-3): 纯度 $\geq 80\%$ 。

5.2.2 茶褐素提取物: 纯度 $\geq 80\%$ 。

5.3 溶液配制

0.15mol/L盐酸溶液: 量取13.5mL盐酸(5.1.5)溶液, 用水定容至1L。

6 仪器和设备

6.1 紫外分光光度计: 配置1cm石英比色皿。

6.2 天平: 感量0.01mg, 0.01g。

6.3 数显恒温水浴锅。

6.4 低温离心机: 转速不小于4500r/min。

6.5 不锈钢研磨机。

6.6 筛网: 试验孔径为0.63mm。

6.7 一般实验室常用器皿和设备。

7 样品制备

按GB/T 8303的规定进行试样制备。

8 分析步骤

8.1 标准溶液制备

8.1.1 茶红素标准溶液(1mg/mL): 准确称取茶红素标准品(5.2.1)10.00mg至10mL容量瓶中, 用水溶解并定容至刻度, 避光4℃保存。临用新配。

8.1.2 茶褐素标准溶液(1mg/mL): 准确称取茶褐素提取物(5.2.2)10.00mg至10mL容量瓶中, 用水溶解并定容至刻度, 避光4℃保存。临用新配。

8.2 绘制标准曲线的制备

8.2.1 茶红素标准工作曲线: 准确移取茶红素标准溶液(1mg/mL)0mL、0.1mL、0.2mL、0.3mL、0.4mL、0.5mL至10mL容量瓶中, 用水稀释并定容至刻度。配制浓度为0 μ g/mL、10 μ g/mL、20 μ g/mL、30 μ g/mL、40 μ g/mL、50 μ g/mL的系列标准溶液。

8.2.2 茶褐素标准工作曲线: 准确移取茶褐素标准溶液(1mg/mL)0mL、0.1mL、0.3mL、0.5mL、0.7mL、0.9mL至10mL容量瓶中, 用水稀释并定容至刻度。配制浓度为0 μ g/mL、10 μ g/mL、30 μ g/mL、50 μ g/mL、70 μ g/mL、90 μ g/mL的系列标准溶液。

8.3 样品提取液的制备

8.3.1 茶红素的测定: 称取试样20g(精确至0.01g)至500mL锥形瓶中。加入200mL沸水后, 置于沸水浴中提取30min, 期间不时搅拌以保证料液充分接触。稍加冷却后用纱布过滤, 取滤液在60℃数显恒温水浴锅(6.3)上浓缩至体积少于15mL, 转移浓缩液至100mL分液漏斗中, 加入三氯甲烷(5.1.2)(浓缩液与三氯甲烷体积比为1:2)萃取, 弃去三氯甲烷层。剩余水层加入乙酸乙酯(5.1.3), 使水层与乙酸乙酯(5.1.3)体积比为1:2进行萃取, 收集乙酸乙酯层于蒸发皿中, 置60℃水浴上蒸干, 备用; 剩余水层加入正丁醇(5.1.4), 使水层与正丁醇体积比为1:1进行萃取, 收集正丁醇层于蒸发皿中, 置60℃水浴上蒸干, 备用; 剩余水层加入0.15mol/L盐酸溶液(5.3)50mL酸化, 加入正丁醇, 使酸化水层与正丁醇体积比为1:1进行萃取, 收集酸化正丁醇层于蒸发皿中, 置60℃水浴上蒸干, 备用。将以上三种蒸干待测样分别用水溶解, 合并转移至100mL容量瓶定容, 摇匀, 再精密量取0.5mL至200mL容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀。得到茶红素待测液。

8.3.2 茶褐素的测定: 称取试样20g(精确至0.01g)至500mL锥形瓶中。加入200mL沸水后, 置于沸水浴中提取30min, 期间不时搅拌以保证料液充分接触。稍加冷却后用纱布过滤, 取滤液在60℃数显恒温水浴锅上浓缩至体积少于5mL, 转移浓缩液至100mL锥形瓶中, 加入无水乙醇(5.1.1)(浓缩液与无

水乙醇体积比为 1:9)，混合均匀，放置到 4℃冰箱静置 8 h 以上，然后在 4℃的条件下 4 500 r/min 离心 15 min，得到沉淀物。沉淀加水溶解并转移至 100 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，再精密量取 1 mL 至 200 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀。得到茶褐素待测液。

8.3.3 干物质含量(质量分数)测定方法见 GB/T 8303。

8.4 空白试验

除不加试样外，按照试样的测定(8.3)相同步骤进行测定。

8.5 测定

8.5.1 将空白试验、茶红素标准系列溶液(8.2.1)和茶红素待测液在波长 272 nm 处，以水为参比，测定吸光度。以茶红素浓度(μg/mL)为横坐标，以相应的吸光度值为纵坐标，建立标准曲线。

8.5.2 将空白试验、茶褐素标准系列溶液(8.2.2)和茶褐素待测液在波长 280 nm 处，以水为参比，测定吸光度。以茶褐素浓度(μg/mL)为横坐标，以相应的吸光度值为纵坐标，建立标准曲线。

9 结果计算

试样中茶红素和茶褐素的含量(以干基计)按照公式(1)计算：

$$X = \frac{(c-c_0) \times v_1 \times v_2}{m \times \omega \times 1000 \times 1000} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

式中：

- X —— 茶红素/茶褐素的含量(以干基计)，单位为百分号(%)；
- c —— 由标准曲线计算得到的目标化合物的浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；
- c_0 —— 空白试样的浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；
- v_1 —— 定容体积，单位为毫升(mL)；
- v_2 —— 稀释倍数；
- m —— 试样的质量，单位为克(g)；
- ω —— 干物质含量(质量分数)，单位为百分号(%)。

测定结果以两次测定的算术平均值表示，测定结果保留小数点后一位。

10 精密度

在重复性条件下获得的2次独立的测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

中华人民共和国团体标准
六堡茶中茶红素、茶褐素的测定
紫外分光光度法
T/GXAS 941—2025
广西标准化协会统一印制
版权专有 侵权必究