

引用格式: 高树财,闫格,胡桂芳等.茶饮料中茶多酚含量测定方法的研究[J].标准科学,2025(1):99-103.

GAO Shu-cai, YAN Ge, HU Gui-fang, et al. Research on the Method for Determining Tea Polyphenol Content in Tea Beverages[J]. Standard Science, 2025(1):99-103.

茶饮料中茶多酚含量测定方法的研究

高树财 闫格 胡桂芳 高火亮*

(河南省食品质量安全控制工程技术研究中心, 河南省商业科学研究所有限责任公司)

摘要: 【目的】建立一种福林酚衍生比色法测定茶饮料中茶多酚含量的分析方法。【方法】采用单因素试验确定衍生的最佳条件,在此条件下绘制没食子酸标准系列溶液吸光度与浓度的标准曲线,并测定实际样品,同时与国标方法测得的结果进行比对。【结果】确定了在10mL溶液体系中,对标准系列溶液的最佳衍生条件为:福林酚用量1.0mol,碳酸钠用量1.5 mL,可在自然光线下进行,反应时长60min。所得标准曲线为 $y=0.100876x+0.015891$, $R^2=0.9989$,线性范围100~2000 mg/kg,方法回收率为106.9%,相对标准偏差为0.6%($n=6$)。【结论】与现行国标方法相比,该法适用浓度范围更广,基质干扰和仪器系统误差更小,准确度和精密度也更高,可为国标方法的改进提供参考。

关键词: 茶饮料;茶多酚;福林酚衍生比色法

DOI编码: 10.3969/j.issn.1674-5698.2025.01.017

Research on the Method for Determining Tea Polyphenol Content in Tea Beverages

GAO Shu-cai YAN Ge HU Gui-fang GAO Huo-liang*

(Henan Food Quality and Safety Control Engineering Technology Research Center, Henan Commerce Science Institute Co., Ltd..)

Abstract: [Objective] The research aims to establish a Folin-Phenol derivative colorimetric analytical method for determining the content of tea polyphenols in tea beverage. [Method] The optimal conditions for derivatization are determined by one-factor experiments. Under those conditions, the standard curve of gallic acid is plotted by measuring absorbance and concentration of the standard series solution, and then the practical samples are measured. The results are compared with those measured by the national standard method. [Result] The optimal derivatization conditions for the standard series solution in a 10 mL system are determined as follows: Folin-phenol reagent usage of 1.0 mol, sodium carbonate usage of 1.5 mL, and the reaction can be carried out under natural light for 60 min. The standard curve is $y=0.100876x+0.015891$, $R^2=0.9989$, with a linear range of 100~2000 mg/kg, a method recovery rate of 106.9%, and a relative standard deviation of 0.6% ($n=6$). [Conclusion] Compared to the national standard method, the method has a wider applicable range of concentration, smaller matrix interference and instrumental system errors, and higher accuracy and precision, which can provide reference for improving the national standard method.

Keywords: tea beverages, tea polyphenol, Folin-Ciocalteu colorimetry method

基金项目: 本文系河南省科学院食品安全与营养健康创新团队项目(项目编号: 20230104)研究成果。

作者简介: 高树财, 硕士, 助理工程师, 研究方向为食品安全检测技术研究。

高火亮, 通信作者, 本科, 工程师, 研究方向为食品安全检测技术研究。

0 引言

茶多酚,又名维多酚、抗氧灵,是茶叶中多种含2-苯基苯并吡喃结构的多酚类物质的总称,主要包括:儿茶素类化合物,黄酮类化合物,花青素、花白素类化合物,酚酸和缩酚酸类化合物四大类。其中儿茶素类化合物最为常见,占茶多酚总量的70%以上^[1]。

由于茶多酚多为含有2个以上的邻位羟基多元酚,具有较强的供氢能力,是一种理想的抗氧化剂,故而在食品工业中广泛的应用,可作为抗氧化剂、保鲜剂、保色剂、除臭剂添加到食品中^[2];同时因其具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、调血脂、保护神经等作用,使得其在医药领域也被广泛使用^[3]。

茶饮料中多含有较高浓度的茶多酚,因而被人们广泛认可为健康饮品,而茶多酚含量的多少,也成为评价茶饮料质量的重要指标。随着人们健康观念的提升及我国饮料市场的日益增长,尤其是茶饮料市场竞争的日益加剧,对茶饮料中茶多酚含量检测方法的准确度提出了更高的要求^[4]。国家标准GB/T 21733-2008《茶饮料》附录A中,采用亚铁离子衍生后测定吸光度,以吸光度与茶多酚含量之间的经验系数来计算其含量,该方法适用的浓度范围较窄,结果受光度计光学性能和比色皿透光性的影响很大,容易在不同实验室间造成较大的偏差^[5],即其标准化程度不高。本研究将福林酚衍生比色法应用于饮料中茶多酚含量的测定,旨在建立一种适用浓度更广,基质干扰和仪器系统误差更小,精密度和准确度更高的检测方法,以期为现行国家标准方法的改进提供参考。

1 材料与设备

1.1 试剂与材料

没食子酸标准品,坛墨质检科技股份有限公司,含量 $\geq 99.5\%$;无水碳酸钠,国药集团化学试剂有限公司,含量 $\geq 99.8\%$;福林酚试剂,北京索莱宝科技有限公司,浓度 1mol/L ;尼龙针式滤器,上海安谱实验科技股份有限公司,规格 13

$\text{mm} \times 0.22\mu\text{m}$;注射器,圣光医用制品股份有限公司,规格 2.5mL ;茶饮料样品,妙记金桂柠檬茶、康师傅茉莉绿茶、三得利清茶、娃哈哈青柑普洱茶、希蒂大红袍牛乳茶等均购自郑州丹尼斯超市。

1.2 仪器设备

紫外可见光光度计,岛津企业管理(中国)有限公司,型号UV-2700;电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司,型号MS-105DU;超声波清洗机,郑州生元仪器有限公司,型号SYU-600DTD。

2 试验原理

试验方法原理:福林酚试剂中的 W^{6+} ,在碱性条件下,被茶多酚中的酚羟基还原为蓝色的 W^{5+} ,该颜色在 765nm 处有最大吸收峰,且溶液吸光度在一定范围内与茶多酚浓度成线性关系,用没食子酸作校正标准定量茶多酚^[6]。

3 试验方法

3.1 样液的制备

将整瓶样品(或加标样品)充分摇匀后,置于超声波清洗机中,超声 1min 脱气、破乳,准确称取 10.00g 于 100mL 容量瓶中,先加入约 30mL 纯水摇匀,再加入 10mL 的 200g/L 乙酸铅溶液,摇匀后静置 10min ,以沉淀蛋白,最后加入 10mL 的 100g/L 硫酸钠溶液,以除去过多的铅。以纯水定容、摇匀、静置 20min ,用注射器吸取上清液,经 $0.22\mu\text{m}$ 针式滤器过滤后即得样液。

注:较透明的样品可免去超声和沉淀蛋白的操作;过滤上清液的体积可根据后续衍生所需样液的数量来确定。

3.2 衍生条件的优化

3.2.1 福林酚用量的优化

吸取8份 2.0mL 的 $100\mu\text{g/mL}$ 没食子酸标准储备液分别加入8个刻度试管内,再分别加入 0.1 , 0.2 , 0.3 , 0.5 , 0.7 , 0.9 , 1.1 , 1.3mL 的 1mol/L 福林酚试剂,并于每个试管内加入 1.5mL 的 100g/L 碳酸

钠溶液,加水定容至10mL,摇匀,静置30min后,用10mm比色皿,在765nm波长下测定其吸光度。

3.2.2 碳酸钠用量的优化

吸取6份1.0mL的100 μ g/mL没食子酸标准储备液分别加入到6个刻度试管内,每个试管内加入1.0 mL的1mol/L福林酚试剂,再分别加入0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0mL的100g/L碳酸钠溶液,加水定容至10mL,摇匀,静置30min后,用10mm比色皿,在765nm波长下测定其吸光度。

3.2.3 反应时间的优化

吸取0.1mL的100 μ g/mL没食子酸标准储备液于刻度试管内,加入1.0mL的1mol/L福林酚试剂和1.5mL的100g/L碳酸钠溶液,加水定容至10mL,摇匀,装入10mm比色皿开始计时,分别于5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140min时,在765nm波长下测定其吸光度。

3.2.4 光照条件的优化

分别吸取2份1.0, 1.5, 2.0mL的100 μ g/mL没食子酸标准储备液于刻度试管内,均加入1.0mL的1mol/L福林酚试剂和1.5mL的100g/L碳酸钠溶液,加水定容至10mL,摇匀,一份于自然光线下放置,另一份避光放置。2h后,用10mm比色皿,在765nm波长下测定其吸光度。

3.3 标准曲线的制作

分别吸取0, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0mL的100 μ g/mL没食子酸标准储备液于刻度试管内,加入一定量福林酚试剂和碳酸钠溶液,加水定容至10 mL,摇匀,得到浓度分别为0, 1, 5, 10, 15, 20 μ g/mL的标准系列衍生液。静置一定时间后,用10mm比色皿,以纯水调零,在765nm波长下测定其吸光度。以浓度为横坐标,对应的吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

注:福林酚和碳酸钠溶液的使用体积、静置时间及避光与否,均按优化后的条件进行。

3.4 样品的测定

吸取样品(或加标样品)的样液1.00mL,按3.3的方法衍生,测定吸光度A;同时,吸取样品(或加标样品)的样液1.00mL,除不加福林酚试剂外,其余按3.3的方法处理样液,测定吸光度A₀,

此为样品本身所含蓝色物质造成的样液空白;从标准曲线中查得吸光度(A-A₀)对应的浓度c,按下列公式计算样品中茶多酚的含量:

$$X = \frac{c \times V}{m \times d}$$

X——样品中茶多酚的含量,单位为mg/kg;

c——从标准曲线上查得的样液中茶多酚的浓度,单位为 μ g/mL;

V——衍生液的定容体积,单位为mL,本方法中V=10 mL;

d——衍生用样液体积占总样液体积的份额,本方法中d=1/100。

3.5 比对试验

对3.4中测定过的样液,再按照GB/T 21733-2008附录A^[7]的方法进行测定,并计算出结果。

4 结果与分析

4.1 衍生条件的优化

图1显示了福林酚用量优化试验中,吸光度与福林酚试剂加入体积之间的关系。本试验中没食子酸的浓度为计划配制的标准系列溶液的最高点—20 μ g/mL,选定的福林酚用量只要能满足该浓度,则其他浓度也能被满足。由图1可知,在总体积为10mL的溶液中,当福林酚用量为0.9mol时,可将200 μ g没食子酸完全衍生,再增加用量,吸光度将不会随之增大。为操作简便,本研究选取1mol/L福林酚试剂的最佳用量为1.0 mL。

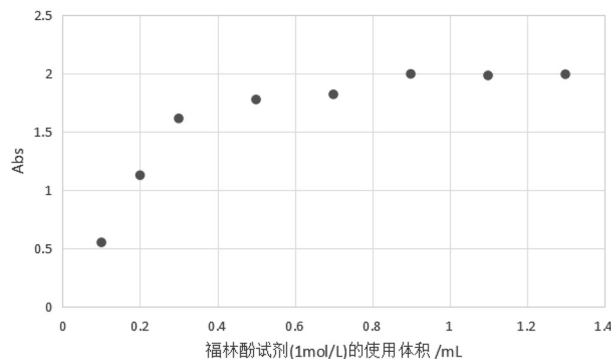


图1 福林酚用量对吸光度的影响

图2显示了碳酸钠用量优化试验中,吸光度与

碳酸钠溶液加入体积之间的关系。在总体积为10 mL的溶液中,当碳酸钠溶液(100g/L)用量为1.5 mL时,其提供的碱性环境,可协同福林酚将没食子酸完全衍生。再增加用量,吸光度将不会随之增大。因此,碳酸钠溶液(100g/L)的最佳用量为1.5 mL。

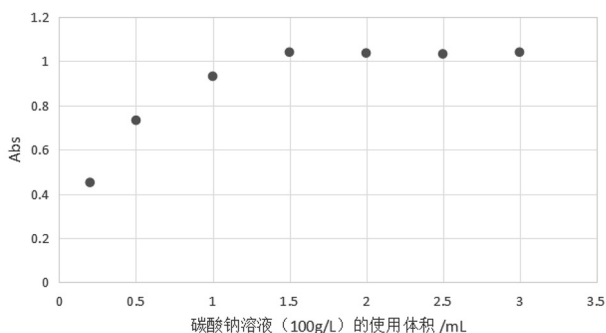


图2 碳酸钠用量对吸光度的影响

图3显示了反应时间优化试验中,吸光度与反应时间之间的关系。本试验中没食子酸的浓度为计划制作的标准系列溶液的最低点—1 $\mu\text{g/mL}$, 根据化学动力学知识“反应物浓度越大,反应速度越快”可知,选定的反应时间只要能满足该浓度,则标准系列溶液的其他浓度也能被满足^[8]。由图可知,约第60min时没食子酸已完全衍生,再延长时间,吸光度将不会随之增大。因此,衍生反应的最佳时长为60min。

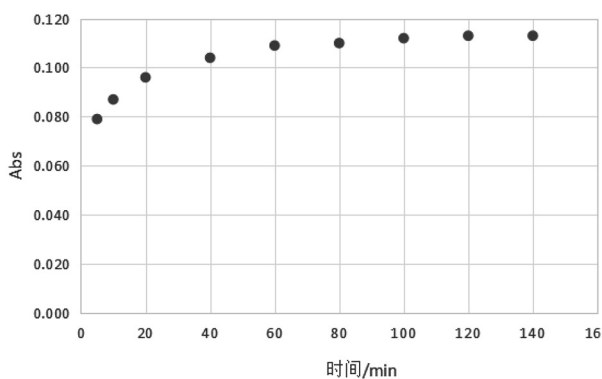


图3 吸光度随反应时间的变化

图4显示了光照条件优化试验中,在自然光和避光条件下,吸光度的对比情况。可见两组测试液的吸光度并无显著差异,为了操作简便,本方法选

择在自然光下进行衍生。

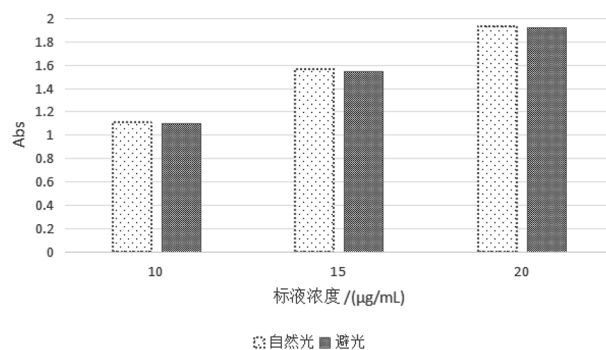


图4 光照条件对吸光度的影响

4.2 标准曲线的制作

图5为优化后的衍生条件下测得的标准曲线,其线性相关系数达0.9989,标曲在1~20 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性良好,对应的样品中茶多酚含量为100~2000mg/kg,该曲线范围几乎覆盖了市售茶饮料中茶多酚含量的所有可能值^[9],具有良好的适用性。

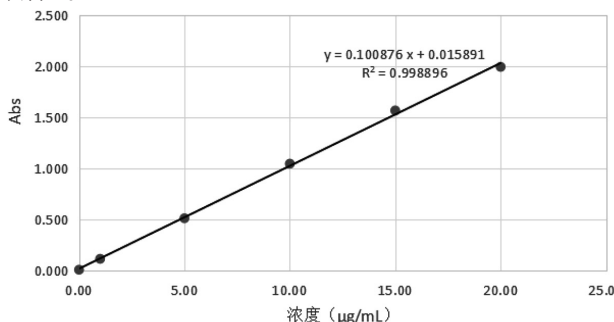


图5 茶多酚标准曲线

4.3 样品测定和比对试验

由表1可知,对1~4号样品,本研究所用方法与GB/T 21733-2008附录A方法所得结果都很接近,而对5号奶茶样品的结果,前者明显小于后者,可能是由于后者在前处理中沉淀蛋白或过滤效果不佳,样液微浊导致吸光度偏高所致,这与任艳等人^[10]研究结果一致。另外,从吸光度数值来看,本研究所用方法测得的数值均落在分光光度计的最佳测定范围(0.2~0.7)内,与GB/T 21733-2008附录A方法相比,系统误差更小。

4.4 精密度和回收率的测定

对2号样品进行加标试验,加入水平为1000

表1 实际样品的测定结果

编号	样品名称	本方法		GB/T 21733-2008方法	
		吸光度	茶多酚含量/(mg/kg)	吸光度	茶多酚含量/(mg/kg)
1	妙记金桂柠檬茶	0.262	243.9	0.084	264.9
2	康师傅茉莉绿茶	0.554	533.3	0.157	537.3
3	三得利清茶	0.582	561.1	0.161	552.2
4	娃哈哈青柑普洱茶	0.334	315.3	0.098	317.1
5	希蒂大红袍牛乳茶	0.130	113.1	0.049	134.3

mg/kg, 对其重复测定6次, 测得结果见表2。本研究所用方法的平均回收率为106.9%, 准确度较高, 相对标准偏差 (RSD) 为0.6%, 精密度良好。

表2 方法的回收率和精密度数据

测定次数	茶多酚含量/(mg/kg)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	1599.6	106.6	106.9	0.6
2	1612.3	107.8		
3	1608.5	107.5		
4	1598.7	106.5		
5	1611.4	107.8		
6	1586.6	105.3		

本研究通过优化衍生条件, 建立了一种更适用于茶饮料中茶多酚含量检测的福林酚衍生比色法, 该方法与现行国标GB/T 21733-2008附录A方法相比, 优点在于前处理所得样液清澈、无干扰, 适用浓度广 (标准曲线在100~2000mg/kg范围内线性良好), 仪器系统误差更小 (光度计读数在最佳测定范围内), 准确度和精密度更高; 不足之处是配制溶液更多, 检测时间更长。若对检测方法的标准化和精准度上作更高要求, 本研究所建方法可作为国标方法改进的良好范本。

5 结论

参考文献

[1] 陈志云,李杰,冯雨,等. 茶多酚生物活性及作用机制研究进展[J]. 食品工业科技,2024,45(13):333-341.

[2] 王佩华,赵大伟. 茶多酚在食品工业中的应用[J]. 安徽农业科学, 2010,38(33):19075-19076+19089.

[3] 尹敏. 茶多酚的药理作用[J]. 福建茶叶,2024,46(9):35-37.

[4] 魏利萍,郭蔚丽. 茶饮料中茶多酚检验的分析与研究[J]. 商品与质量: 学术观察,2014(9):259.

[5] 周卫龙,许凌,徐建峰,等. GB/T 8313-2008 第二法茶叶中茶多酚测定的研究比较[J]. 中国茶叶加工, 2009(1):40-41.

[6] 中华全国供销合作总社. GB/T 8313-2018, 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法[S].

[7] GB/T 21733-2008,茶饮料[S].

[8] 刘洪宇. 论浓度、温度、催化剂对化学反应速度的影响[J]. 现代商贸工业, 2010, 22(21):377-378.

[9] 李悦,艾薇,李晓娇,等. 市售茶饮料中茶多酚含量的调查与分析[J]. 食品与发酵科技,2019,55(5):102-105.

[10] 任艳,卢飞,胡晓燕. 奶茶饮料中茶多酚含量测定的方法改进研究和应用[J]. 饮料工业, 2024, 27(3):25-29.