



中华人民共和国国家标准

GB/T 23193—××××
代替 GB/T 23193—2008

茶叶中茶氨酸的测定 高效液相色谱法

Determination of theanine in tea—Using high performance liquid chromatography

××××-××-××发布

××××-××-××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。

本标准代替 GB/T 23193—2008《茶叶中茶氨酸的测定 高效液相色谱法》。与 GB/T 23193—2008 相比,主要技术差异如下:

——测定原理及前处理过程完全不一样;

——样品处理差异:0.5 g 样品加水 100 mL,80 °C 水浴浸提 45 min,修改为 1.0 g 样品加沸水 100 mL,浸提 30 min;

——无净化及衍生步骤,过 0.45 μm 膜后,直接进样。

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、国家食品安全监督检验中心、泉州出入境检验检疫局综合技术服务中心、福建日春实业有限公司。

本标准起草人:周卫龙、徐建峰、刘小力、陆小磊、石维妮、叶美君、刘相真、黄伙水、王启灿。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB/T 23193—2008。

茶叶中茶氨酸的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了用高效液相色谱法测定茶叶中茶氨酸含量的方法。

本标准适用于茶叶中茶氨酸的测定。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

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

茶叶样品中茶氨酸经沸水加热提取、净化处理后,采用分离强极性化合物的 RP-18 柱,检测波长 210 nm,用高效液相色谱仪进行测定,与标准系列比较定性、定量。

4 试剂

4.1 除非另有说明,在分析中所使用试剂均为分析纯,用水为 GB/T 6682 规定的三级水。

4.2 乙腈:色谱级。

4.3 茶氨酸标准品(L-theanine):纯度 $\geq 99\%$ 。

4.4 HPLC 流动相

4.4.1 流动相 A:100%纯水。

4.4.2 流动相 B:100%乙腈(4.2)。

4.5 茶氨酸标准储备溶液

4.5.1 茶氨酸标准储备溶液

称取 0.05 g 茶氨酸(精确到 0.000 1 g),用水溶解后移入 50 mL 容量瓶中,稀释至刻度,混匀,此溶液每毫升含 1 mg 茶氨酸。有效期为一年。

4.5.2 茶氨酸标准使用液

分别准确吸取茶氨酸标准储备溶液(4.5.1)0.0 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL,用水定容至 10 mL,得到浓度分别为 0.0 mg/mL、0.01 mg/mL、0.02 mg/mL、0.05 mg/mL、0.10 mg/mL、0.15 mg/mL、0.20 mg/mL 的茶氨酸标准使用溶液。有效期为一年。

4.6 0.45 μm 水相滤膜。

5 仪器

5.1 高效液相色谱仪:包含梯度洗脱、紫外检测器及色谱工作站。

- 5.2 分析天平:感量 0.000 1 g。
 5.3 恒温水浴锅。
 5.4 离心机:转速 13 000 r/min。

6 测定步骤

6.1 样品处理

6.1.1 取样

按 GB/T 8302 的规定。

6.1.2 试样制备

按 GB/T 8303 的规定。

6.1.3 干物质含量测定

按 GB/T 8303 的规定。

6.1.4 样品制备

茶叶样品经磨碎混匀后,称取 1.0 g(准确至 0.01 g)磨碎试样(或茶叶)于 200 mL 烧杯中,加沸蒸馏水 100 mL。置于 100 °C 的恒温水浴锅(5.3)中浸提 30 min,过滤,转移到 100 mL 容量瓶中,冷却后,用水定容至刻度,混匀。用 0.45 μm 水相滤膜(4.6)过滤,或者取 1 mL 样品,在 13 000 r/min 条件下高速离心 10 min,然后进液相色谱分析。

6.2 测定

6.2.1 色谱条件

色谱条件如下:

- 色谱柱:RP-18 (粒径 5 μm, 250 mm×4.6 mm)。
- 流速:0.5 mL/min~1.0 mL/min;
- 柱温:35 °C±0.5 °C;
- 进样量:10 μL~20 μL;
- 检测波长:210 nm;
- 梯度洗脱条件:如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	A/%	B/%	备注
0	100	0	分析
10	100	0	分析
12	20	80	洗柱
20	20	80	洗柱
22	100	0	平衡
40	100	0	平衡

注: A:100%纯化水;B:100%乙腈。

6.2.2 测定

待流速和柱温稳定后,进行空白运行。准确吸取 10 μL 茶氨酸标准使用液注入 HPLC。在相同的色谱条件下注射 10 μL 测试液。测试液以峰面积定量。由色谱峰的峰面积可从标准曲线上求出相应的茶氨酸的浓度。测试液中的茶氨酸的响应值均应在仪器测定的线性范围之内。色谱图参见附录 A。

7 分析结果的计算

茶叶中茶氨酸含量按式(1)进行计算:

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times w \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——样品中茶氨酸的含量,单位为克每千克(g/kg);

c ——样品浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

V ——最终定容后样品的体积,单位为毫升(mL);

m ——样品的质量,单位为克(g);

w ——样品的干物质含量(质量分数),%。

如果符合重复性(第 8 章)的要求,取两次测定的算术平均值作为结果,计算结果保留小数点后两位有效数字。

8 重复性

在重复条件下获得的两次独立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)

茶氨酸标准样品液相色谱图

茶氨酸标准样品液相色谱图见图 A.1。

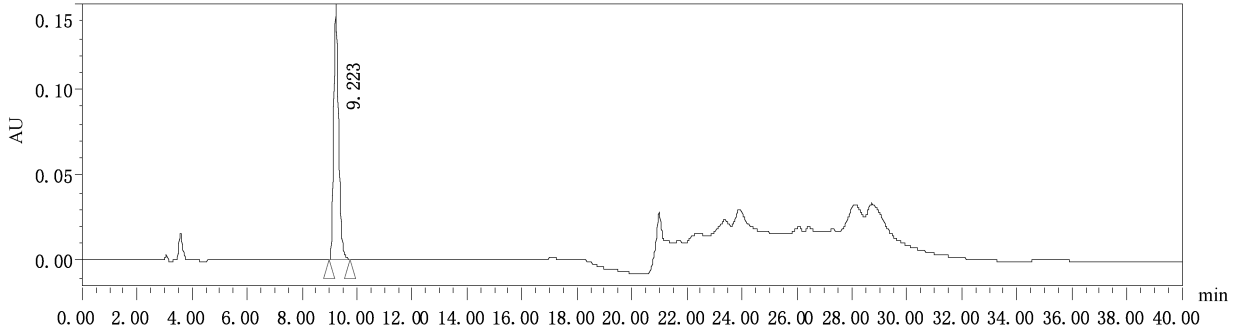


图 A.1 茶氨酸标准样品液相色谱图