

团 体 标 准

T/ZMX 004—2020

张家界莓茶 总黄酮的测定

Zhangjiajie Ampelopsis Grossedentata Total flavonoids determination

2020 - 12- 20 发布

2021 -01 - 01 实施

张家界市莓茶协会 发布

目 次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 原理.....	1
5 仪器和用具.....	2
6 试剂与溶液.....	2
7 操作方法.....	2
8 结果计算.....	3

前 言

本文件依据GB/T 1.1-2020 标准化工作导则给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的起草和发布单位不承担相关责任。

本文件由张家界市莓茶协会提出并归口。

本文件起草单位：湖南农业大学、张家界市农业科学技术研究所、张家界莓茶发展服务中心、湖南省张家界应用植物研究所、湖南乾坤生物科技有限公司、张家界莓茶园农业开发有限公司、张家界茅岩河投资有限公司、张家界白岁王茶业有限公司、张家界长寿藤健康产业有限公司、张家界顺利生态药业专业合作社、湖南桑涤农业科技有限公司、张家界锦之华生态农业开发有限公司、张家界原产地莓茶园农业开发有限公司、张家界黄土城食品商贸有限公司、张家界老班子食品有限公司、张家界中世生态药业发展有限公司、张家界湘巧茶叶开发有限公司、张家界诺康生态茶业有限公司、张家界千寻汤屋生态农业发展有限公司、张家界鑫林生物科技有限责任公司。

本标准主要起草人：肖文军、林玲、覃事永、王文茂、向平、龚伯勇、邓武成、何礼、覃国银、刘超、周国祥、朱万璋、覃利、陈开涤、韩文彬、唐龙海、尚华、李州华、覃一鑫、刘志诚、朱芳翼、覃玉兰、刘将军、田丽萍。

张家界莓茶 总黄酮的测定

1 范围

本文件规定了张家界莓茶总黄酮检测的原理、仪器和用具、试剂与溶液、操作方法及结果计算的方法。

本文件适用于张家界市莓茶协会成员生产的莓茶的总黄酮测定。

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 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

张家界莓茶 *Zhangjiajie Ampelopsis grossedentata*

特指生长于张家界行政区域内，经人工栽培种植的显齿蛇葡萄植物，采摘其幼嫩茎叶或成熟绿叶为原料，采用摊青、杀青、揉捻、析晶、干燥等工艺加工而成的代用茶饮品。

3.2

总黄酮 *Total flavonoids*

指一类具有苯并吡喃环结构的黄酮类化合物的总称，广泛存在于植物界，最常见的是黄酮和黄酮醇，其它包括双氢黄(醇)、异黄酮、双黄酮、黄烷醇、查尔酮、橙酮、花色苷及新黄酮类等。显齿蛇葡萄叶中的黄酮类化合物主要为二氢杨梅素。

4 原理

黄酮类化合物中的3-羟基、4-羟基或5-羟基、4-羰基或邻二位酚羟基，可与铝盐进行络合反应，在碱性液体中生成红色络合物，在一定的浓度范围内，其浓度与吸光度符合比耳定律。显齿蛇葡萄叶中的主要活性成分为黄酮类化合物中的二氢杨梅素，最大紫外吸收波长为291 nm，可通过制作标准工作曲线和测定样品的吸光度，计算样品中总黄酮含量。

5 仪器和用具

5.1 仪器

紫外可见分光光度计（波长范围190nm~900nm，日本岛津公司）、天平（感量0.001g，梅特勒-托利多仪器上海有限公司）、水浴锅（上海精宏实验设备有限公司）、粉碎机（浙江屹立工贸有限公司）。

5.2 用具

容量瓶（10mL，25mL，50mL和100mL）、10mm比色皿。

6 试剂与溶液

6.1 除非另有说明，本文件所用的试剂均为分析纯（AR），水为蒸馏水。

6.2 5%AlCl₃溶液：准确称取 5.0g 无水 AlCl₃，加入蒸馏水溶解并定容至 100mL。

6.3 95%甲醇溶液：量取 95mL 无水甲醇，向其中加入 5 mL 水，混合均匀。

6.4 二氢杨梅素（上海阿拉丁生化科技股份有限公司）：纯度≥99.0%（HPLC法），4℃密封避光保存。

6.5 二氢杨梅素标准品储备液：称取二氢杨梅素标准品 15.00 mg，加入 95%甲醇溶解并定容至 25 mL。

7 操作方法

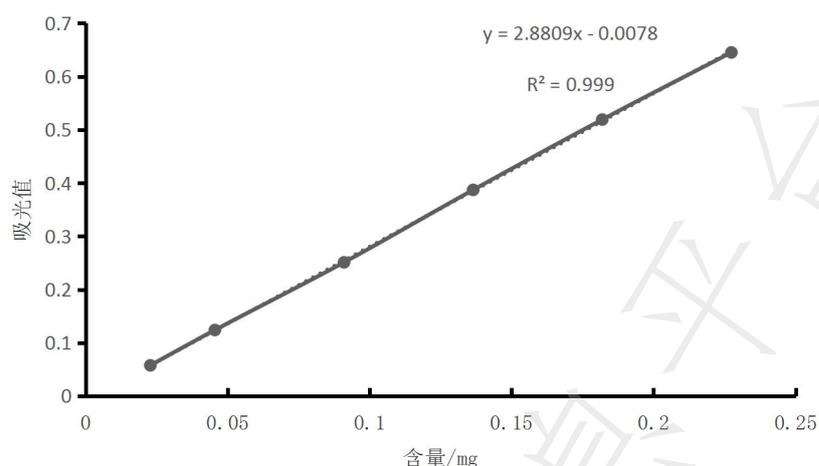
7.1 供试样品的制备

参照GB/T 8303中6.2规定的方法，称取100g左右的显齿蛇葡萄代用茶产品，粉碎成0.85mm（20目）左右的茶粉，混合均匀，每个样品准备三个平行样。

7.2 测定步骤

7.2.1 标准曲线的制作

分别吸取0.00mL、0.05 mL、0.10 mL、0.15 mL、0.20 mL、0.25 mL和0.30 mL二氢杨梅素标准品储备液置于10mL容量瓶中，加入5%AlCl₃溶液3mL，95%甲醇定容至10mL，摇匀后室温避光放置40min，95%甲醇溶液随行空白（即3mL 5%AlCl₃溶液+7mL 95%甲醇），于291nm处测定吸光度。所测吸光度与对应的二氢杨梅素浓度绘制成标准工作曲线（如图1所示）。



注：X-制作标准曲线时标准品稀释液中总黄酮含量（以二氢杨梅素计）/（mg/mL）

Y-291nm Abs

图1 二氢杨梅素浓度与吸光度的标准曲线（291nm）

7.2.2 试样母液的制备

从7.1中制备的莓茶茶粉中，称取三份样品，每份1.0g，加入100mL 95%甲醇，于80℃加热回流提取1h（从甲醇沸腾开始计算时间），得醇提取液，冷却后过滤，将滤液移至100mL容量瓶中，并用95%甲醇溶液定容至100mL。

7.2.3 试样工作液的制备

吸取试样母液2.0 mL置于50mL容量瓶中，用95%甲醇定容。

7.2.4 测定

吸取0.5mL试样工作液于10mL容量瓶中，加入3mL 5%AlCl₃溶液后，用95%甲醇定容至10mL，摇匀，室温避光放置40min，试剂空白液（3mLAlCl₃溶液+7mL95%甲醇）作参比，于291nm处测定吸光度。

8 结果计算

8.1 计算方法

按照本文件7.2.1的方法制作标准曲线并得到标准曲线方程后，将测定样品的吸光值（Y）代入标准曲线方程中，计算稀释后样品母液中总黄酮的含量（以二氢杨梅素计）/（mg/mL），最终乘以样品稀释倍数50000倍，得到待测定样品中总黄酮含量（以二氢杨梅素计）/（mg/g）。

8.2 重复性

在重复条件下同一样品获得的测定结果的绝对值差值不得超过算术平均值的10%。