

实验技术与方法

分光光度法检测食品添加剂茶黃素含量

张海红^{1,2},田洪芸^{1,2},毕婷婷^{1,2},王文特^{1,2},胡明燕^{1,2},王骏^{1,2}

(1. 山东省食品药品检验研究院,山东 济南 250101;2. 国家市场监管重点实验室 肉及肉制品监管技术,山东 济南 250101)

摘要:目的 建立了分光光度法测定食品添加剂茶黃素含量的分析方法。方法 样品先用水溶解,依次用乙酸乙酯、2.5% 碳酸氢钠溶液萃取,一定体积酯相用乙醇定容后,采用分光光度法定量。探究最大吸收波长、样品量、碳酸氢钠溶液浓度、碳酸氢钠溶液萃取时间等对吸光度的影响。结果 探索了最大吸收波长、样品量、碳酸氢钠溶液浓度、碳酸氢钠溶液萃取时间等对吸光度的影响。在最佳条件下,4 种茶黃素单体在各自浓度范围内线性关系良好,相关系数均>0.999。采用茶黃素-3-没食子酸酯标曲定量,定量限为 3%,加标回收率为 95.2%~108.4%,相对标准偏差均<5%。**结论** 本检测方法具有较好的重复性、精密度及稳定性,适用于检测食品添加剂茶黃素含量。

关键词:分光光度法;食品添加剂;茶黃素

中图分类号:R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2022)04-0761-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.04.020

Determination of food additive theaflavins by ultraviolet spectrophotometry

ZHANG Haihong^{1,2}, TIAN Hongyun^{1,2}, BI Tingting^{1,2}, WANG Wente^{1,2}, HU Mingyan^{1,2}, Wang Jun^{1,2}

(1. Shandong Institute for Food and Drug Control, Shandong Ji'nan 250101, China; 2. Key Laboratory of Supervising Technology for Meat and Meat Products for State Market Regulation, Shandong Ji'nan 250101, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of food additive theaflavins by ultraviolet spectrophotometry. **Methods** After dissolved in water, the sample solution was extracted with ethyl acetate and 2.5% sodium bicarbonate solution in turn. A certain volume of ester phase was fixed with ethanol, and then it was quantified by spectrophotometry. The maximum absorption wavelength, sample quality, concentration of sodium bicarbonate solution and extraction time by sodium bicarbonate solution were researched. **Results** Under the best conditions, four theaflavin monomers had good linear relationships within their respective concentration ranges, and the correlation coefficients were all greater than 0.999. The limit of quantitation was 3%, the standard recoveries were 95.2%~108.4%, and the relative standard deviations were less than 5%. **Conclusion** This method has good repeatability, precision and stability, and is suitable for the determination of food additive theaflavin.

Key words: Ultraviolet visible spectrophotometry; food additive; theaflavins

茶黃素(Theaflavin, TFI)是我国允许使用的食品添加剂,已列入 GB 2760 系列标准中,作为天然抗氧化剂可在多种食品中进行使用。茶黃素是存在于发酵茶中的一种金黄色色素,为茶叶发酵产物^[1],是由茶多酚类物质经氧化缩合而形成的一类具有苯骈卓酚酮结构的化合物,溶于乙酸乙酯后呈橙黄色的物质^[2]。到目前为止,已发现茶黃素种类

达 28 种之多,其中含量最多是 TFI、茶黃素-3-没食子酸酯(theaflavin-3-gallate, TF2A)、茶黃素-3'-没食子酸酯(theaflavin-3'-gallate, TF2B)和茶黃素-3,3'-双没食子酸酯(theaflavin-3,3'-gallate, TF3)^[3-5]。由于茶黃素具有抗氧化、调血脂、抗肿瘤、抗病毒等多种特殊的生物学活性,广泛受到国内外的关注^[6-10]。

目前,关于食品添加剂茶黃素中茶黃素含量测定方法的报道较少,相关方法均是测定茶叶及含茶制品中茶黃素含量的方法,主要有 Robert 法、Flavognost(α-氨基乙基二苯硼酸酯)法、氧化铝比色法、Sephadex LH-20 柱层析法、Whitehead 法、高效液相色谱法、毛细管电泳法等^[11-16];相关国家标准方法

收稿日期:2021-12-31

作者简介:张海红 女 高级工程师 研究方向为食品检测与食品
质量 E-mail: zhanghaihong315@163.com

通信作者:田洪芸 女 高级工程师 研究方向为食品质量与安全
E-mail: sdsythy@126.com

有 GB/T 30483—2013《茶叶中茶黄素的测定-高效液相色谱法》^[17]和 GB/T 31740.3—2015《茶制品第3部分:茶黄素》^[18],均为液相色谱法。利用液相色谱法直接检测,灵敏度高,专属性好,仪器设备要求高。国家卫生计生委发布关于海藻酸钙等食品添加剂新品种的公告(2016年第8号)^[19]将茶黄素纳入食品添加剂新品种,目前,尚无检测食品添加剂茶黄素国家标准,公告中茶黄素含量测定方法为分光光度法。分光光度法不能区分茶黄素单体,测定的是茶黄素总量。

目前,茶黄素含量相关检测方法有原国家卫生和计划生育委员会2016年第8号公告、GB/T 31740.3—2015《茶制品第3部分:茶黄素》和GB/T 30483—2013《茶叶中茶黄素的测定-高效液相色谱法》。2016年第8号公告为使用混合茶黄素对照品进行定量的紫外分光光度法,其中公告中的茶黄素指纹图谱也明确了茶黄素主要有四种单体成分,见图1^[19]。GB/T 31740.3—2015、GB/T 30483—2013规定了使用高效液相色谱法测定TF1、TF2A、TF2B、TF3 4种成分并采用这四种成分的总和计算茶黄素总量,与2016年第8号公告一致。

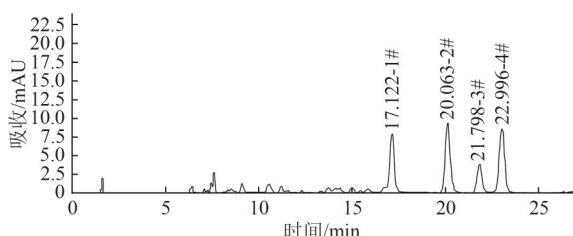


图1 茶黄素指纹图谱

Figure 1 The spectrum of theaflavins

对从市场和企业获得的20余种食品添加剂茶黄素样品经高效液相色谱法实验验证,茶黄素样品主要有茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-双没食子酸酯4个保留峰。谱图见图2。由图2可以看出,茶黄素样品主要有茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-双没食子酸酯4个成分,可能是茶黄素其他成分的保留峰比较小,与基线相近。

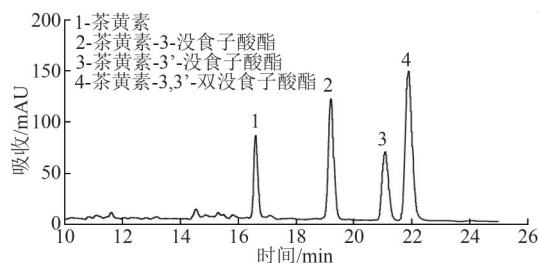


图2 食品添加剂茶黄素样品液相色谱图

Figure 2 The chromatographic diagram of food additive theaflavins sample

本研究在参考公告和国家标准方法的基础上,结合目前国内市场产品的实际情况和企业调研,形成采用茶黄素4个主要单体成分进行定量测定的紫外分光光度法,并对不同类型的20余种实际样品进行了测定。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

紫外可见分光光度计(美国赛默飞世尔公司)。

茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-双没食子酸酯标准品(纯度≥98%,乐美天医药),红茶提取物(茶黄素混合物,sigma),咖啡因标准品(99%,sigma),碳酸氢钠、乙酸乙酯、95%乙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

检测用的茶黄素样品从3家生产企业直接购买获得。

1.2 方法

1.2.1 溶液配制

1.2.1.1 茶黄素标准溶液(1 mg/mL)

称取25 mg茶黄素标准品,用95%乙醇溶解并定容至25 mL,摇匀。

1.2.1.2 茶黄素-3-没食子酸酯标准溶液(1 mg/mL)

称取25 mg茶黄素-3-没食子酸酯标准品,用95%乙醇溶解并定容至25 mL,摇匀。

1.2.1.3 茶黄素-3'-没食子酸酯标准溶液(1 mg/mL)

称取25 mg茶黄素-3'-没食子酸酯标准品,用95%乙醇溶解并定容至25 mL,摇匀。

1.2.1.4 茶黄素-3,3'-双没食子酸酯标准溶液(1 mg/mL)

称取25 mg茶黄素-3,3'-双没食子酸酯标准品,用95%乙醇溶解并定容至25 mL,摇匀。

1.2.1.5 红茶提取物溶液(1 mg/mL)

称取25 mg红茶提取物,用95%乙醇溶解并定容至25 mL,摇匀。

1.2.1.6 咖啡因标准溶液(1 mg/mL)

称取10 mg咖啡因标准品,用95%乙醇溶解并定容至10 mL,摇匀。

1.2.1.7 碳酸氢钠溶液(2.5%)

称取25.0 g碳酸氢钠,用水溶解并定容至1 L,摇匀。临用现配。

1.2.2 样品前处理

准确称量0.10 g样品,用适量水溶解,超声10 min,用水定容至100 mL,摇匀;准确移取上述样品溶液30 mL于100 mL分液漏斗中,迅速加入30 mL乙酸乙酯,震荡5 min,静置分层,移取酯相15 mL至另一100 mL分液漏斗中,并加入15 mL 2.5%碳

酸氢钠溶液,再震荡 30 s,最后移取酯相 4 mL 到 25 mL 容量瓶中,用 95% 乙醇定容,摇匀,为样品待测液。

1.2.3 标准曲线

分别移取 0.00、0.25、0.50、1.00、2.00 mL 茶黄素标准溶液于 25 mL 容量瓶中,分别用 95% 乙醇溶解并定容至 25 mL,摇匀。

分别移取 0.00、0.25、0.50、1.00、2.00 mL 茶黄素-3-没食子酸酯标准溶液于 25 mL 容量瓶中,分别用 95% 乙醇溶解并定容至 25 mL,摇匀。

分别移取 0.00、0.25、0.50、1.00、2.00 mL 茶黄素-3'-没食子酸酯标准溶液于 25 mL 容量瓶中,分别用 95% 乙醇溶解并定容至 25 mL,摇匀。

分别移取 0.00、0.25、0.50、1.00、2.00 mL 茶黄素-3,3'-双没食子酸酯标准溶液于 25 mL 容量瓶中,分别用 95% 乙醇溶解并定容至 25 mL,摇匀。

将标准曲线溶液分别采用 1 cm 石英比色皿,以 95% 乙醇为空白于 380 nm 下测定吸光值。

1.2.4 样品检测

以标准系列吸光值为纵坐标,对应的浓度为横坐标,绘制标准曲线。根据标准曲线计算茶黄素浓度。

$$W(\%) = \frac{C \times 100 \times 25/4}{m \times 1000} \times 100$$

式中:W:茶黄素的质量分数,%;C:根据茶黄素单体标准曲线计算的样品浓度,mg/mL;C=aA+b(A 为吸光值);m:试样的质量,g;100——定容至 100 mL;25/4:4 mL 稀释到 25 mL;1 000:换算系数。

1.3 统计学分析

4 个茶黄素单体标准曲线的线性相关系数均大于 0.999。在重复性条件下获得的 6 次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 10%,相对标准偏差小于 5%。

2 结果

2.1 最大吸收波长的确定

对红茶提取物、茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-双没食子酸酯和咖啡因标准溶液在 200~600 nm 波长下扫描。由图 3 可知,红茶提取物、茶黄素 4 个单体标准物质、咖啡因在 200~300 nm 均有 2 个比较强的吸收峰,并且部分重叠;在 380、480 nm 左右,红茶提取物和茶黄素 4 个单体也各有一个吸收峰,并且咖啡因在此波长下没有吸收峰。为了排除咖啡因对测定结果的影响,本方法选取测定波长为 380 nm。

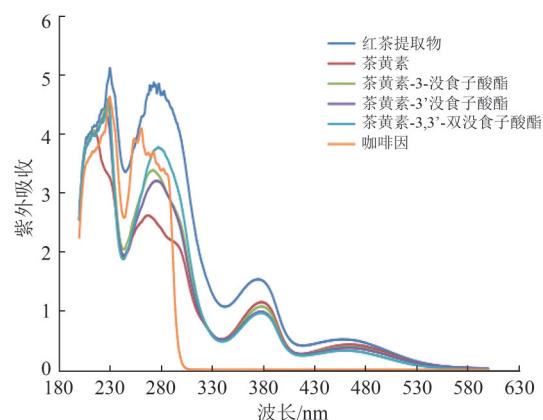


图 3 紫外吸收曲线

Figure 3 The curves of UV absorption

2.2 前处理条件

2.2.1 称样量的确定

选取 1 个茶黄素含量 30% 左右(茶黄素含量预先经过分光光度法确认)的样品,称取 0.10、0.20、0.30、0.50、1.00 g,经相同提取处理后,进行比色测定,结果见图 4。随称样量的增大,茶黄素含量逐渐降低。说明称样量太大,样品溶解不完全,导致提取不完全,测定的含量偏低。本方法选择称样量为 0.10 g 左右。

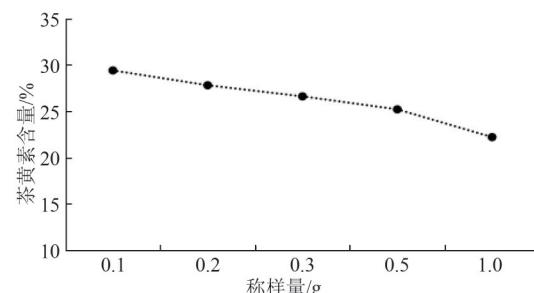


图 4 不同称样量下的茶黄素含量

Figure 4 The theaflavin content under different sample weights

2.2.2 碳酸氢钠溶液浓度与振荡时间

茶色素是一类以儿茶素为主的茶多酚类化合物经酶促氧化或非酶促氧化的植物酚性色素,含多酚类化合物、糖类、氨基酸等多种组分,依颜色可分为茶黄素类、茶红素类、茶褐素类^[20]。茶黄素具有易溶于水、乙醇和乙酸乙酯的特性;茶红素成分主要有可溶于乙酸乙酯的组分、可溶于正丁醇的组分、不溶于正丁醇的组分和非透析性的褐色高聚合物^[20];茶褐素是一种水溶性聚合酚类化合物,能溶于水,不溶于乙酸乙酯和正丁醇^[21]。根据茶黄素、茶红素、茶褐素的特性,将茶黄素分离出来。用 2.5% 碳酸氢钠溶液处理样品可以除去茶红素^[19,22]。但是 2.5% 碳酸氢钠碱性溶液也可使茶黄素自动氧化而使测定结果偏低,所以需要严格控制 2.5% 碳酸氢钠溶液用量和处理时间,既能保证除去茶红素

杂质,又不影响茶黄素结果测定。本方法考察了碳酸氢钠浓度为0.0%、1.0%、2.5%、5.0%、10.0%时,相同碳酸氢钠溶液体积处理后茶黄素含量,结果见图5。

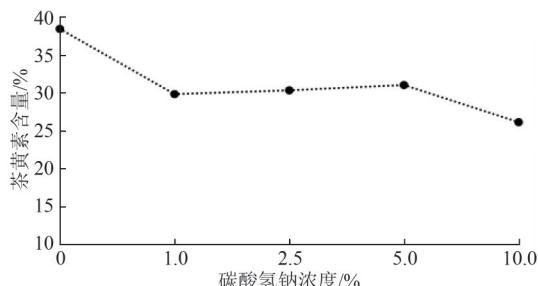


图5 不同碳酸氢钠浓度下的茶黄素含量

Figure 5 The theaflavin content under different sodium bicarbonate concentrations

由图5看出,碳酸氢钠溶液浓度为0~1.0%时,茶黄素含量明显下降,这是由于样品经碳酸氢钠溶液处理,除去了茶红素杂质,测定结果降低。碳酸氢钠溶液浓度为1.0%~5.0%,茶黄素含量基本保持不变,说明茶红素杂质在这个浓度范围可基本被

去除。当碳酸氢钠溶液增加到10.0%时,测定的茶黄素含量有较为明显的下降,说明采用较大浓度的碳酸氢钠溶液处理,使茶黄素含量降低。所以选取与公告2016年第8号一致的结果,即碳酸氢钠溶液为2.5%。

2.3 方法的线性曲线和检出限

2.3.1 方法的线性曲线

参照《国家卫生计生委发布关于海藻酸钙等食品添加剂新品种的公告(2016年第8号)》中茶黄素含量测定方法。研究发现,标准曲线的茶黄素含量≥0.08 g/L时,吸光度值大于1。因此标准曲线选取0.00、0.02、0.04、0.06、0.08 g/L 5个点,在此范围内标准曲线的线性相关系数r=0.999,具有比较好的线性,见图6。同时,分别用这4个茶黄素单体的标准曲线对实际样品进行定量,样品的检测结果基本是一致的,其中用茶黄素单体标曲定量的样品含量偏低,偏差小于四种单体定量结果的平均值的10%。因此,检测实际样品时,选取一种茶黄素单体标曲进行定量即可(本文采用茶黄素-3-没食子酸酯标准曲线来定量)。

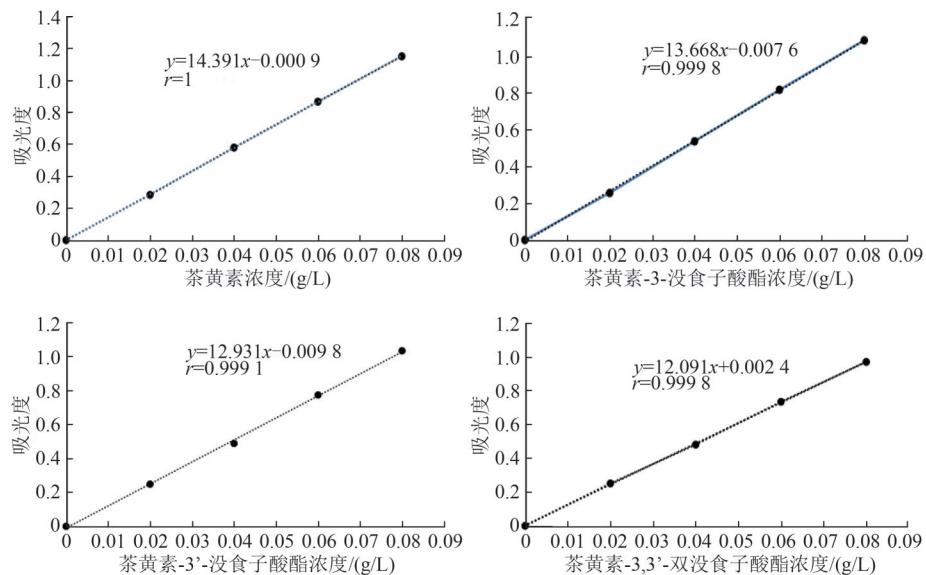


图6 茶黄素单体的标准曲线

Figure 6 Standard curve of theaflavin monomer solution

2.3.2 方法的检出限

空白试验中未检出目标物,按照样品分析的全部步骤,对浓度值或含量为估计方法检出限的2~5倍的样品进行平行测定($n\geq 7$),将各测定结果换算为样品中的浓度或含量,计算平行测定的标准偏差,按公式(1)计算方法检出限(Limit of detection, LOD)。

$$\text{LOD} = t(n-1, 0.99) \times \text{SD} = 3.143 \times \text{SD} \quad (1)$$

本次验证时,以2%标准溶液进行n(n=7)次重复测定,计算测定结果的标准偏差(SD),根据公式(2)和

公式(3)计算方法检出限和定量限(Limit of quantitation, LOQ)。

$$\text{LOD} = t(n-1, 0.99) \times \text{SD} = 3.143 \times \text{SD} \quad (2)$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{LOD} \quad (3)$$

因此,确定本方法茶黄素检出限为0.27%,定量限为3%。国家卫生计生委发布关于海藻酸钙等食品添加剂新品种的公告(2016年第8号)^[19]规定茶黄素含量≥20%,将近3%的7倍,因此本方法满足公告检测要求。具体检测结果见表1。

表1 茶黄素样品的测定结果
Table 1 Determination results of theaflavin sample

编号	测定值 /%	平均值 /%	标准偏差 /%	t值	检出限 /%	定量限 /%
1	2.11					
2	2.02					
3	1.90					
4	2.06	1.98	0.086	3.143	0.27	3
5	1.96					
6	1.93					
7	1.88					

2.4 精密度实验

选取茶黄素含量为30%的样品,每个样品平行测定6次,计算平均值和相对标准偏差。检测结果见表2。

表2 茶黄素样品的测定结果
Table 2 Determination of theaflavin sample

样品类型	测定值/%	平均值/%	RSD/%
	31.54		
	31.25		
茶黄素(30%)	31.64	31.71	1.33
	32.43		
	31.44		
	31.94		

可见,茶黄素测定结果的平均值为31.71%,相对标准偏差为1.33%,方法的精密度较好。

2.5 加标回收率实验

选取茶黄素含量为30%的样品,分别在3%、20%、40%的低、中、高三个浓度水平进行加标试验,按照样品分析的全部步骤进行处理,每个样品平行测定7次,计算不同浓度水平样品的加标回收率和相对标准偏差等参数,检测结果见表3。

表3 加标回收率和相对标准偏差($n=7$)

Table 3 Recoveries and relative standard deviation of Theaflavin samples ($n=7$)

样品类型	加标量 /%	本底值 /%	测定值 /%	平均回收率 /%	RSD/%
	3.35		3.19	95.2	4.7
茶黄素(30%)	20.11	31.71	21.80	108.4	2.3
	40.33		41.21	102.2	1.6

在3个加标水平下,加标回收率为95.2%~108.4%,相对标准偏差为1.6%~4.7%,加标回收率满足GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》标准的要求,数据分布集中,说明该方法具有较高的准确性。

2.6 样品检测

按照本方法对3家企业的22个茶黄素样品进行测定(按茶黄素-3-没食子酸酯标曲计算),结果见表4。茶黄素按含量通常分为TF20、TF40和TF60共3种规格。表4样品类型中的数字表示样品的茶

表4 茶黄素样品的测定结果
Table 4 Determination of theaflavin samples

样品编号	样品类型	测定值/%	测定值与标示值相比
cd001	TF50	32.10	偏低
cd002	TF50	31.71	偏低
cd003	TF50	34.31	偏低
cd004	TF50	31.41	偏低
cd007	TF65	49.79	偏低
cd008	TF65	51.65	偏低
cd009	TF65	48.73	偏低
cd010	TF50	50.47	符合
cd012	TF50	57.79	符合
cd013	TF50	48.05	符合
cd015	TF50	52.06	符合
cd016	TF50	54.05	符合
cd017	TF50	48.76	符合
cd018	TF50	47.15	符合
wx019	50%	32.54	偏低
wx021	TF40	28.24	偏低
wx022	TF20	15.54	偏低
zj023	HPLC50	36.16	偏低
zj024	HPLC50	38.05	偏低
zj025	HPLC50	37.03	偏低
zj027	HPLC50	37.00	偏低
zj029	HPLC50	37.41	偏低

黄素标示含量,以TF50为例,表示含茶黄素50%。

由表4可以看出,22个样品中,仅7个样品实际检测值与标示值是基本相符的,另外15的样品的实际检测值均低于标示值20%以上。由此看出,市场上的一部分食品添加剂茶黄素含量标识与实际含量不符,品质质量有待进一步规范,方便快捷的检测方法是亟待研发。

3 结论

本文建立的分光光度法测定食品添加剂茶黄素含量的方法,具有前处理简单、线性相关系数好、检出限低、精密度好、准确度高、安全快捷的优势。本方法适用于食品添加剂中茶黄素含量的测定。方法的检出限和定量限既能满足现行公告的检测要求,又满足了中小企业的低成本检测需求,为茶黄素质量控制和监管提供了一种简便易行的方法。

参考文献

- [1] 叶美君,周卫龙,徐建峰,等.不同茶类中茶黄素类含量的测定与分布探讨[J].农产品加工,2015(4): 49-53.
- [2] ROBERTS E A H, CARTWRIGHT R A, OLDSCHOOL M. The phenolic substances of manufactured tea. I.-Fractionation and paper chromatography of water-soluble substances[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1957, 8(2): 72-80.
- [3] HE H F. Research progress on theaflavins: efficacy, formation, and preparation[J]. Food & Nutrition Research, 2017, 61(1):

- 1344521.
- [4] 刘昌伟, 张梓莹, 王俊懿, 等. 茶黄素生物学活性研究进展 [J/OL]. (2021-07-26) [2022-06-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20210726.1739.022.html>.
- LIU C W, ZHANG Z Y, WANG J Y, et al. Research progress on bioactivity of theaflavins [J/OL]. (2021-07-26) [2022-06-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20210726.1739.022.html>.
- [5] 郑艳超, 於天, 郑志刚, 等. 茶黄素生物活性与开发应用的研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(23): 6095-6101.
- ZHENG Y C, YU T, ZHENG Z G, et al. Research progress on biological activity and application development of theaflavins [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(23): 6095-6101.
- [6] FU G L, WANG H, CAI Y L, et al. Theaflavin alleviates inflammatory response and brain injury induced by cerebral hemorrhage via inhibiting the nuclear transcription factor kappa β -related pathway in rats [J]. Drug Design, Development and Therapy, 2018, 12: 1609-1619.
- [7] WU Y T, JIN F J, WANG Y L, et al. In vitro and in vivo anti-inflammatory effects of theaflavin-3, 3'-digallate on lipopolysaccharide-induced inflammation [J]. European Journal of Pharmacology, 2017, 794: 52-60.
- [8] LEI S C, XIE M H, HU B, et al. Effective synthesis of theaflavin-3, 3'-digallate with epigallocatechin-3-O-gallate and epicatechin gallate as substrates by using immobilized pear polyphenol oxidase [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 94: 709-718.
- [9] SAITO A, NAKAZATO R, SUHARA Y, et al. The impact of theaflavins on systemic-and microcirculation alterations: the murine and randomized feasibility trials [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2016, 32: 107-114.
- [10] 刘泽嵌, 韩驰. 茶色素和茶多酚防癌作用的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(4): 312-314.
- LIU Z Q, HAN C. Studies on cancer prevention by tea polyphenols and tea pigments [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2005, 17(4): 312-314.
- [11] 周卫龙, 徐建峰, 许凌. 茶叶中茶黄素测定的提取方法探讨[J]. 中国茶叶加工, 2007(3): 42-44.
- ZHOU W L, XU J F, XU L. Chayezhong chahuangsu ceding de tiqu fangfa tantao [J]. China Tea Processing, 2007(3): 42-44.
- [12] 商业部茶叶畜产局商业部杭州茶叶加工研究所. 茶叶品质理化分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989.
- Shangyebu chaye chuchanju shangyebu hangzhou chaye jiagong yanjiusuo. Chaye pinzhilihua fenxi [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1989.
- [13] 王坤波, 刘仲华, 黄建安, 等. 高效液相色谱法测定红茶中的茶黄素[J]. 色谱, 2004, 22(2): 151-153.
- WANG K B, LIU Z H, HUANG J A, et al. Determination of theaflavins in black tea by high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2004, 22(2): 151-153.
- [14] 刘洪林, 童华荣. 高效液相色谱法同时测定工夫红茶中10种内含物成分[J]. 食品科学, 2016, 37(8): 97-101.
- LIU H L, TONG H R. Determination of ten components in congou black tea by HPLC [J]. Food Science, 2016, 37(8): 97-101.
- [15] 刘美霞, 王丹慧, 其其格, 等. 奶茶粉中茶多酚质量分数的检测方法[J]. 中国乳品工业, 2010, 38(7): 50-53.
- LIU M X, WANG D H, QIQIGE, et al. Milk Powder detection of tea polyphenols [J]. China Dairy Industry, 2010, 38(7): 50-53.
- [16] 夏文娟, 张丽霞, 史作安, 等. 毛细管电泳分析茶黄素的方法研究[J]. 茶叶科学, 2006, 26(2): 147-153.
- XIA W J, ZHANG L X, SHI Z A, et al. Analysis of theaflavins by capillary electrophoresis [J]. Journal of Tea Science, 2006, 26(2): 147-153.
- [17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国标准化管理委员会. 茶叶中茶黄素的测定-高效液相色谱法: GB/T 30483—2013[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Determination of theaflavins in tea—High performance liquid chromatography: GB/T 30483—2013[S]. Beijing: Standards Press of China, 2013.
- [18] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国标准化管理委员会. 茶制品 第3部分: 茶黄素: GB/T 31740.3—2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Tea products—Part 3: Theaflavins: GB/T 31740.3—2015 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2015.
- [19] 国家卫生和计划生育委员会. 国家卫生计生委发布关于海藻酸钙等食品添加剂新品种的公告(2016年第8号) [EB/OL]. (2016-07-01) [2022-06-10]. <http://www.nhfpc.gov.cn/spss/57890/201606/125c3d8fa2034de3b7d52a82608709d2.shtml>. National Health and Family Planning Commission. Guojia weisheng jishengwei fabu guanyu haizaosuangai deng shipin tianjiaji xinpinchong de gonggao (2016 nian di 8 hao) [EB/OL]. (2016-07-01) [2022-06-10]. <http://www.nhfpc.gov.cn/spss/57890/201606/125c3d8fa2034de3b7d52a82608709d2.shtml>.
- [20] 蒋慧颖, 马玉仙, 曾文治, 等. 茶黄素、茶红素与茶褐素对高脂饮食大鼠肠道菌群的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(20): 274-279, 351.
- JIANG H Y, MA Y X, ZENG W Z, et al. Effects of theaflavins, thearubigins and theabrownine on intestinal flora in rats fed with high-fat diet [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(20): 274-279, 351.
- [21] 秦谊, 龚加顺, 张惠芬, 等. 普洱茶茶褐素提取工艺及理化性质的初步研究[J]. 林产化学与工业, 2009, 29(5): 95-98.
- QIN Y, GONG J S, ZHANG H F, et al. Extraction technology of theabrownine from Pu-erh tea and its physico-chemical properties [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2009, 29(5): 95-98.
- [22] 中华人民共和国农业农村部. 红茶中茶红素和茶褐素含量的测定分光光度法: NY/T 3675—2020[S]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
- Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Determination of thearubigin and theabrownine in black tea—Spectrophotometry: NY/T 3675—2020 [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2020.