



中华人民共和国国家标准

GB/T 21727—2008

固态速溶茶 儿茶素类含量的检测方法

Instant tea in solid form—Determination of catechins content

(ISO 14502-2:2005, Determination of substances characteristic of green and black tea—Part 2: Content of catechins in green tea—Method using high-performance liquid chromatography, MOD)

2008-05-04 发布

2008-10-01 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

本标准修改采用 ISO 14502-2:2005《高效液相色谱法测定绿茶中儿茶素》。本标准与 ISO 14502-2:2005 的主要差异为：本标准采用了 ISO 14502-2:2005 中速溶茶儿茶素测定的有关部分，不包括 ISO 14502-2:2005 中茶叶儿茶素的测定部分；本标准结构上对 ISO 14502-2:2005 进行了适当的调整。

本标准由中华全国供销合作总社提出并归口。

本标准起草单位：中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院。

本标准主要起草人：徐建峰、周卫龙、许凌。

固态速溶茶 儿茶素类含量的检测方法

1 范围

本标准规定了用高效液相色谱(HPLC)测定固态速溶茶中儿茶素类含量的方法。
本标准适用于固态速溶茶中儿茶素类含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 18798.1 固态速溶茶 取样(GB/T 18798.1—2002,eqv ISO 7516:1984)

GB/T 18798.3 固态速溶茶 水分测定(GB/T 18798.3—2002,eqv ISO 7513:1990)

3 原理

速溶茶用热的10%乙腈溶解。儿茶素类的测定用 C_{18} 柱、检测波长278 nm、梯度洗脱、HPLC分析,用儿茶素类标准物质外标法直接定量,也可采用儿茶素类与咖啡碱的相对校正因子 RRF_{std} (ISO国际环试结果)(见7.2)来定量。

4 仪器

- 4.1 分析天平:感量0.000 1 g。
- 4.2 水浴。
- 4.3 离心机:转速3 500 r/min。
- 4.4 混匀器。
- 4.5 高效液相色谱仪(HPLC):包含梯度洗脱及检测器(检测波长278 nm)。
- 4.6 数据处理系统。
- 4.7 液相色谱柱: C_{18} (粒径5 μm ,250 mm \times 4.6 mm)。

5 试剂

本标准所用水为重蒸馏水,除特殊规定外,所用试剂为分析纯。

- 5.1 乙腈:色谱纯。
- 5.2 甲醇。
- 5.3 乙酸。
- 5.4 甲醇水溶液(体积比):7+3。
- 5.5 乙二胺四乙酸(EDTA)溶液:10 mg/mL(现配)。
- 5.6 抗坏血酸溶液:10 mg/mL(现配)。
- 5.7 稳定溶液:分别将25 mL EDTA溶液(5.5)、25 mL 抗坏血酸溶液(5.6)、50 mL 乙腈(5.1)加入500 mL容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀。
- 5.8 液相色谱流动相
- 5.8.1 流动相A:分别将90 mL 乙腈(5.1)、20 mL 乙酸(5.3)、2 mL EDTA(5.5)加入1 000 mL容量

瓶中,用水定容至刻度,摇匀。溶液需过 0.45 μm 膜。

5.8.2 流动相 B: 分别将 800 mL 乙腈(5.1)、20 mL 乙酸(5.3)、2 mL EDTA (5.5) 加入 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀。溶液需过 0.45 μm 膜。

5.9 标准储备溶液

5.9.1 咖啡碱储备溶液: 2.00 mg/mL。

5.9.2 没食子酸(GA)储备溶液: 0.100 mg/mL。

5.9.3 儿茶素类储备溶液: +C 1.00 mg/mL, +EC 1.00 mg/mL, +EGC 2.00 mg/mL, +EGCG 2.00 mg/mL, +ECG 2.00 mg/mL。

5.10 标准工作溶液: 用稳定溶液(5.7)配制。

标准工作溶液的浓度: 没食子酸 5 $\mu\text{g/mL}$ ~ 25 $\mu\text{g/mL}$ 、咖啡碱 50 $\mu\text{g/mL}$ ~ 150 $\mu\text{g/mL}$ 、+C 50 $\mu\text{g/mL}$ ~ 150 $\mu\text{g/mL}$ 、+EC 50 $\mu\text{g/mL}$ ~ 150 $\mu\text{g/mL}$ 、+EGC 100 $\mu\text{g/mL}$ ~ 300 $\mu\text{g/mL}$ 、+EGCG 100 $\mu\text{g/mL}$ ~ 400 $\mu\text{g/mL}$ 、+ECG 50 $\mu\text{g/mL}$ ~ 200 $\mu\text{g/mL}$ 。

6 操作方法

6.1 取样

按 GB/T 18798.1 的规定。

6.2 测定步骤

6.2.1 干物质含量测定

按 GB/T 18798.3 的规定。

6.2.2 供试液的制备

称取 0.5 g (精确到 0.000 1 g) 均匀的速溶茶于 50 mL 容量瓶,加入 $\leq 60^\circ\text{C}$ 水溶解,加 5 mL 乙腈(5.1)并用水定容至刻度,摇匀。用移液管移取上述提取液 2 mL 至 10 mL 容量瓶中,用稳定溶液(5.7)定容至刻度,摇匀,过 0.45 μm 膜,待测。

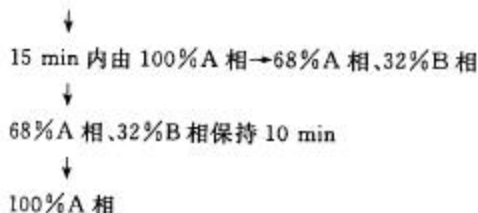
6.2.3 色谱条件

流动相流速: 1 mL/min。

柱温: 35°C 。

紫外检测器: $\lambda = 278 \text{ nm}$ 。

梯度条件: 100% A 相保持 10 min



6.2.4 测定

待流速和柱温稳定后,进行空白运行。准确吸取 10 μL 混合标准系列工作液注射入 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。

7 结果计算

7.1 计算方法

7.1.1 以儿茶素类标准物质定量,按式(1)计算:

$$\text{儿茶素含量}(\%) = \frac{A \times f_{\text{Std}} \times V \times d}{m_1 \times 10^6 \times m} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

A ——所测样品中被测成分的峰面积;

f_{Std} ——所测成分的校正因子(浓度/峰面积,浓度单位“ $\mu\text{g/mL}$ ”);

V ——样品提取液的体积,单位为毫升(mL);

d ——稀释因子(通常为 2 mL 稀释成 10 mL,则其稀释因子为 5);

m_1 ——样品称取量,单位为克(g);

m ——样品的干物质含量, %。

7.1.2 以咖啡碱标准物质定量,按式(2)计算:

$$\text{儿茶素含量}(\%) = \frac{A \times RRF_{Std} \times V \times d}{S_{Caf} \times m_1 \times 10^3 \times m} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

RRF_{Std} ——所测成分相对于咖啡碱的校正因子;

S_{Caf} ——咖啡碱标准曲线的斜率(峰面积/浓度,浓度单位“ $\mu\text{g/mL}$ ”);

7.2 儿茶素类相对咖啡碱的校正因子表

见表 1。

表 1 儿茶素类相对咖啡碱的校正因子表

名称	GA	+EGC	+C	+EC	+EGCG	+ECG
RRF_{Std}	0.84	11.24	3.58	3.67	1.72	1.42

7.3 儿茶素类总量计算公式

见式(3)。

$$\text{儿茶素类总量}(\%) = \text{EGC 含量} + \text{C 含量} + \text{EC 含量} + \text{EGCG 含量} + \text{ECG 含量} \quad \dots\dots(3)$$

7.4 重复性

同一样品儿茶素类总量的两次测定值相对误差应 $\leq 10\%$,若测定值相对误差在此范围,则取两次测得值的算术平均值为结果,保留小数点后两位。