



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

化学纤维 儿茶素含量的测定 高效液相色谱法

Man-made fibre—Determination of catechins content—High performance liquid chromatography

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会

发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容有可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由全国化学纤维标准化技术委员会（SAC/TC 586）提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

化学纤维 儿茶素含量的测定 高效液相色谱法

警告：使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关法规规定的条件。

1 范围

本文件描述了采用高效液相色谱法测定儿茶素改性纤维中儿茶素含量的方法。
本文件适用于含有儿茶素活性成分的化学纤维的儿茶素含量的检测。

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 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 试验原理

利用甲醇萃取纤维样品中的儿茶素类活性成分，利用高效液相色谱法进行儿茶素类活性成分的定性定量分析。

4 试剂和材料

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和符合GB/T 6682规定的一级水。

4.1 儿茶素类标准物质：儿茶素（CAS登录号154-23-4）、表儿茶素（CAS登录号490-46-0）、表没食子儿茶素（CAS登录号970-74-1）、表儿茶素没食子酸酯（CAS登录号1257-08-5）、表没食子儿茶素没食子酸酯（CAS登录号989-51-5），色谱纯，纯度 $\geq 98\%$ 。

4.2 试剂：甲醇，甲酸，甲酸铵，乙腈，色谱纯。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪（HPLC）：配置SPD-M40二极管阵列检测器。

5.2 天平：实际分度值0.1 mg。

5.3 螺纹口样品瓶：2 mL，可用于高效液相色谱自动进样，配套聚四氟乙烯内垫。

5.4 超声波清洗仪：功率400 W，频率40 kHz，配500 mL提取瓶。

5.5 布氏漏斗、抽滤瓶。

5.6 定性滤纸：不含脂，中速。

- 5.7 旋转蒸发仪：配旋蒸瓶。
- 5.8 0.45 μm微孔滤膜。
- 5.9 量筒。
- 5.10 刻度移液管或移液枪：1 mL。
- 5.11 容量瓶：500mL。

6 试验步骤

6.1 试样准备

称取无油纤维或者去除油剂之后的纤维约 5 g，剪成约 0.2 cm 长短的碎片，作为待测样品。

6.2 试样萃取

用天平称取(5.0 g±0.01g)待测样品，记录质量*m*，放入500.0 mL的超声波提取瓶（5.4）中，量取150.0 mL甲醇倒入提取瓶中浸泡约12 h，超声30 min，摇匀。提取瓶中的萃取液经布氏漏斗（5.5）抽滤，再用甲醇洗涤提取瓶三次，每次10.0 mL，滤液倒入旋转蒸发仪的旋蒸瓶（5.7），进行旋蒸，旋蒸条件为35℃减压旋干，旋蒸瓶内的浓缩物用2.0 mL甲醇复溶，超声2 min~3 min 后，用0.45 μm微孔滤膜（5.8）将复溶液过滤至2.0 mL螺纹口样品瓶（5.3）中供仪器分析用。

6.3 绘制标准工作曲线

用甲醇配制系列标准曲线，C、EC、ECG、EGC和EGCG标准曲线浓度为：0.50 μg/mL、1.00 μg/mL、2.50 μg/mL、5.00 μg/mL、10.00 μg/mL和20.00 μg/mL。

以色谱峰面积为纵坐标，已知被测物质量浓度为横坐标，绘制工作曲线，线性相关系数应不小于0.99。

在测试线性范围内，可以配制其他浓度范围的标准溶液。

6.4 样品测试

将按 6.2 处理好的样品溶液进行高效液相色谱检测。根据 6.3 建立的标准曲线，外标法计算样品中儿茶素类物质的含量。

由于测试结果取决于所使用的仪器，因此不可能给出色谱分析的全部参数。采用下列操作条件已被证明对测试是合适的：

- a) 色谱柱：Acclaim™ Polar Advantage II HPLC 色谱柱（4.6 mm×250 mm×5 μm），或相当者；
- b) 流动相流速：1.0 mL/min；
- c) 柱温：30 ℃；
- d) 进样量：10.0 μL；
- e) 紫外检测波长：278 nm；
- f) 流动相 A：分别将 25 mL 水、0.189 mL 甲酸和 0.0631 g 甲酸铵加入到 500 mL 容量瓶（5.11）中，用乙腈定容至刻度，摇匀，使用前过 0.45 μm 微孔滤膜（5.8）并超声 1 小时；
- g) 流动相 B：分别将 0.189 mL 甲酸和 0.0631 g 甲酸铵加入 500 mL 容量瓶（5.11）中，用水定容至刻度，摇匀，使用前过 0.45 μm 微孔滤膜（5.8）并超声 1 小时；
- h) 流动相运行梯度如表 1 所示。

表 1 流动相运行梯度

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
----------	-----------	-----------

0	5	95
15	30	70
25	30	70

用上述液相色谱条件，测试标样、试样溶液和空白溶液（甲醇），然后通过比较试样溶液与标样溶液的出峰时间进行定性分析，根据 6.3 标准曲线外标法定量。如果试样溶液中目标物的浓度超出标准工作曲线最高点浓度值，则应对试样溶液进行适当稀释后再测定。儿茶素类标准物质的色谱图参见附录 A。

7 结果计算

试样中所测成分的含量，按公式（1）计算。试样中儿茶素的含量以所测的儿茶素 C、表儿茶素 EC、表没食子儿茶素 EGC、表儿茶素没食子酸酯 ECG、表没食子儿茶素没食子酸酯 EGCG 的含量之和 ω 表示。

$$\omega = \frac{(C-C_0) \times 2 \times 1000}{m} \times n \dots\dots\dots (1)$$

式中：

ω ——试样中所测成分的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

C ——由标准工作曲线得到的试样萃取液中所测成分的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）；

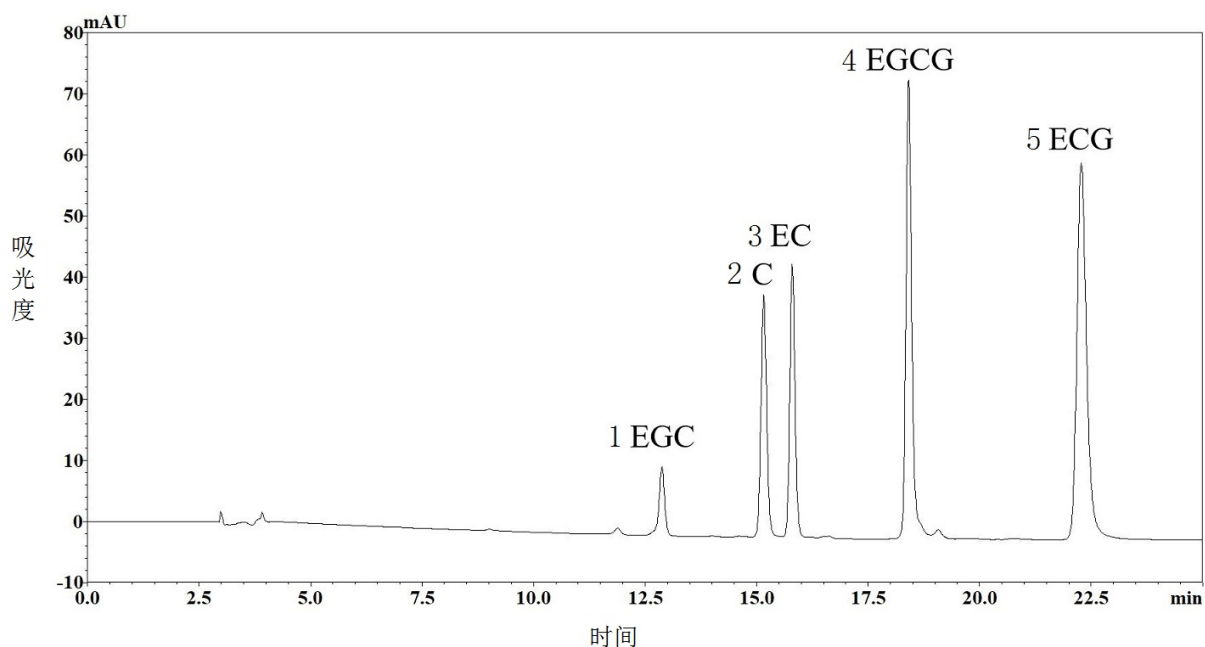
C_0 ——空白溶液中所测成分的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）；

m ——干燥至恒重的纤维试样质量，单位为克（ g ）；

n ——稀释因子，当试样萃取液未稀释时， $n=1$ 。

计算结果保留三位有效数字。

附录 A
(资料性)
儿茶素类标准物质的液相色谱图



标引序号说明:

- 1——表没食子儿茶素 (epigallocatechin, EGC) ;
- 2——儿茶素 (catechin, C);
- 3——表儿茶素 (epicatechin, EC);
- 4——表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin gallate, EGCG);
- 5——表儿茶素没食子酸酯 (epicatechin gallate, ECG)。

图A.1 儿茶素类标准物质液相色谱图