

飲料中兒茶素之檢驗方法

Method of Test for Catechins in Drink

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於飲料中兒茶素(catechin)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經稀釋後以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC) 分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 高效液相層析儀：
 - 2.1.1.1. 檢出器：光二極體陣列檢出器(photodiode array detector)，波長 280 nm。
 - 2.1.1.2. 層析管：Agilent Eclipse Plus C18，5 μm ，內徑 4.6 mm $\times$ 25 cm，或同級品。
 - 2.2. 試藥：乙腈採用液相層析級；甲酸及 85%磷酸採用試藥特級；gallic acid (GC)、epigallocatechin (EGC)、catechin (C)、epicatechin (EC)、epigallocatechin gallate (EGCG)、gallic acid gallate (GCG)、catechin gallate (CG)及 epicatechin gallate (ECG) 8 種兒茶素對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：5 mL、50 mL，褐色。
 - 2.3.2. 濾膜：孔徑 0.45 μm ，Nylon 材質。
 - 2.4. 0.1%磷酸溶液：

量取 85%磷酸 1.2 mL，加去離子水使成 1000 mL。
 - 2.5. 移動相溶液之調製：
 - 2.5.1. 移動相溶液 A：

甲酸與去離子水以 0.1：99.9 (v/v)之比例混合均勻，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 A。
 - 2.5.2. 移動相溶液 B：

甲酸與乙腈以 0.1：99.9 (v/v)之比例混合均勻，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 B。
 - 2.6. 標準溶液之配製：

取兒茶素對照用標準品各約 10 mg，精確稱定，分別置於 5 mL 之容

量瓶中，以 0.1%磷酸溶液溶解並定容，作為標準原液，於 -20°C 避光貯存備用。臨用時，取各標準原液 1 mL，共置於 10 mL 之容量瓶中，以 0.1%磷酸溶液定容，再以 0.1%磷酸溶液稀釋至 2.5~100 µg/mL，作為標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

精確量取檢體 5 mL，以 0.1%磷酸溶液稀釋至 10 mL，混合均勻後，以濾膜過濾，取濾液供作檢液。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 20 µL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各兒茶素含量(µg/ mL)。

$$\text{檢體中各兒茶素含量}(\mu\text{g/ mL}) = \frac{C \times V_2}{V_1}$$

C：由標準曲線求得檢液中兒茶素之濃度(µg/mL)

V₁：取樣分析檢體之體積(mL)

V₂：檢體最後定容之體積(mL)

高效液相層析測定條件：

光二極體陣列檢出器：波長 280 nm。

移動相溶液：A 液與 B 液以下列條件進行梯度分析。

時間(min)	A (%)	B (%)
0 → 10	90 → 90	10 → 10
10 → 24	90 → 80	10 → 20
24 → 30	80 → 78	20 → 22
30 → 35	78 → 75	22 → 25
35 → 35.1	75 → 90	25 → 10
35.1 → 45	90 → 90	10 → 10

移動相流速：1.0 mL/min。

附註：檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。