
МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
ISO 10727—
2013

ЧАЙ И ЧАЙ РАСТВОРИМЫЙ

Определение содержания кофеина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

(ISO 10727:2002, Tea and instant tea in solid form — Determination of caffeine content — Method using high-performance liquid chromatography, IDT)

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2019

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Некоммерческой организацией «Российская Ассоциация производителей чая и кофе «РОСЧАЙКОФЕ» (Ассоциация «РОСЧАЙКОФЕ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5, который выполнен ФГУП «СТАНДАРТИН-ФОРМ»

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 марта 2013 г. № 55-П)

За принятие проголосовали:

| Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97 | Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97 | Сокращенное наименование национального органа по стандартизации |
|---|------------------------------------|---|
| Армения | AM | Минэкономики Республики Армения |
| Беларусь | BY | Госстандарт Республики Беларусь |
| Казахстан | KZ | Госстандарт Республики Казахстан |
| Киргизия | KG | Кыргызстандарт |
| Молдова | MD | Молдова-Стандарт |
| Россия | RU | Росстандарт |
| Таджикистан | TJ | Таджикстандарт |
| Узбекистан | UZ | Узстандарт |

(Поправка).

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 июня 2013 г. № 355-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 10727—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2014 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 10727:2002 Tea and instant tea in solid form — Determination of caffeine content — Method using high-performance liquid chromatography (Чай и быстрорастворимый чай в твердой форме. Определение содержания кофеина. Метод жидкостной хроматографии высокого разрешения).

Международный стандарт разработан подкомитетом ISO TC 34/SC 8 «Чай» технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (раздел 3.6).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ИЗДАНИЕ (декабрь 2019 г.) с Поправкой (ИУС 6—2019)

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 2002 — Все права сохраняются
© Стандартиформ, оформление, 2014, 2019



В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

| | |
|---|---|
| 1 Область применения | 1 |
| 2 Нормативные ссылки..... | 1 |
| 3 Сущность метода | 1 |
| 4 Реактивы..... | 1 |
| 5 Оборудование | 2 |
| 6 Отбор пробы | 3 |
| 7 Подготовка пробы | 3 |
| 8 Методика проведения анализа..... | 3 |
| 9 Обработка результатов | 4 |
| 10 Прецизионность | 4 |
| 11 Протокол испытаний | 5 |
| Приложение А (справочное) Результаты межлабораторных испытаний..... | 6 |
| Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам | 7 |
| Библиография..... | 8 |

ЧАЙ И ЧАЙ РАСТВОРИМЫЙ

Определение содержания кофеина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

Tea and instant tea. Determination of caffeine content. Method using high-performance liquid chromatography

Дата введения — 2014—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания кофеина в чае и растворимом чае методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Метод применим к чаю и растворимому чаю, в т. ч. декофеинизированным.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения).

ISO 1572:1980 Tea; Preparation of ground sample of known dry matter content (Чай. Приготовление измельченной пробы с известным содержанием сухих веществ)

ISO 3696:1987 Water for analytical laboratory use; Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний)

ISO 7513:1990 Instant tea in solid form; determination of moisture content (loss in mass at 103 °C) (Чай быстрорастворимый в твердой форме. Определение содержания влаги (потеря массы при 103 °C))

3 Сущность метода

Кофеин из пробы чая экстрагируется водой в присутствии оксида магния. После фильтрации содержание кофеина определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием.

4 Реактивы

Применяют реактивы подтвержденного аналитического качества.

4.1 Вода дистиллированная в соответствии с ISO 3696.

4.2 Метанол класса для ВЭЖХ.

4.3 Подвижная фаза, водный раствор метанола.

Вносят 600 см³ метанола (см. 4.2) в мерную колбу вместимостью 2 дм³. Добавляют дистиллированную воду до метки. Перемешивают и фильтруют раствор через фильтр с размером пор 0,45 мкм (см. 5.3).

Регулируя концентрацию метанола, можно изменять время удерживания кофеина с целью оптимизации хроматографического разделения. Той же цели можно достигнуть путем увеличения температуры колонки, но не выше 60 °C.

4.4 Этанол, 25% (об.) водный раствор.

4.5 Магния оксид (так называемый «тяжелый оксид магния»).

П р и м е ч а н и е — Использование легкого оксида магния может привести к ошибкам в определении кофеина.

4.6 Кофеин, исходный раствор массовой концентрации 500 мкг/см³.

Взвешивают 0,125 г кофеина с точностью ± 0,001 г в мерную колбу вместимостью 250 см³. Добавляют достаточное количество водного раствора этанола (см. 4.4) — примерно до половины объема колбы. Перемешивают до полного растворения кофеина и добавляют водный раствор этанола до метки.

Раствор можно использовать в течение месяца при хранении в холодильнике.

4.7 Кофеин, стандартные растворы.

Стандартные растворы кофеина А, В, С и D готовят в день использования.

4.7.1 Кофеин, стандартный раствор А массовой концентрации 15 мкг/см³.

Используют исходный раствор (см. 4.6), имеющий комнатную температуру. С помощью пипетки помещают 3,0 см³ этого раствора в мерную колбу объемом 100 см³. Добавляют дистиллированную воду до метки и перемешивают.

4.7.2 Кофеин, стандартный раствор В массовой концентрации 10 мкг/см³.

Следуют процедуре, приведенной в 4.7.1, но отбирают пипеткой 2,0 см³ исходного раствора кофеина (см. 4.6).

4.7.3 Кофеин, стандартный раствор С массовой концентрации 5 мкг/см³.

Следуют процедуре, приведенной в 4.7.1, но отбирают пипеткой 1,0 см³ исходного раствора кофеина (см. 4.6).

4.7.4 Кофеин, стандартный раствор D массовой концентрации 2 мкг/см³.

С помощью пипетки переносят 20 см³ стандартного раствора кофеина В (см. 4.7.2) в мерную колбу объемом 100 см³. Добавляют дистиллированную воду до метки и перемешивают.

5 Оборудование

Используется обычное лабораторное оборудование, в частности:

5.1 Высокоэффективный жидкостной хроматограф, оборудованный УФ-детектором, позволяющим проводить измерения в диапазоне длин волн от 254 до 280 нм, и системой сбора данных или самописцем.

П р и м е ч а н и е — Предпочтительным является измерение на длине волны, близкой к 280 нм, т. к. максимум поглощения кофеина наблюдается на длине волны 272 нм.

Если наблюдается заметное суточное изменение температуры, должны быть предприняты меры для поддержания постоянной температуры колонки, например, с помощью термостата колонки или водяного охлаждения.

5.2 Хроматографическая колонка для ВЭЖХ с обращенными фазами типа С18 (предпочтительно со сферическими частицами и эффективностью не менее 5000 теоретических тарелок)*. Число теоретических тарелок N может быть рассчитано исходя из формы пика, полученного при вводе одного из стандартных растворов кофеина (см. 4.7), по формуле

$$N = 5,54 \left(\frac{t}{W_{0,5}} \right)^2, \quad (1)$$

где t — время удерживания пика;

$W_{0,5}$ — ширина пика на половине высоты.

П р и м е ч а н и е — В данном стандарте условия проведения хроматографического разделения и состав подвижной фазы (см. 4.3) определены для колонки Partisphere C18 размером 110 × 4,6 мм, установленной в системе для ВЭЖХ Whatman. Если используются другие типы колонок, могут потребоваться другие подвижные фазы и условия проведения хроматографического разделения.

* Spherisorb 5 ODS, Spherisorb 10 ODS, Nucleosil 5 C18, Nucleosil 7 C18, Nucleosil 10 C18, Zorbax BP C18, Hypersil ODS, CP-Sper C18, Bondapak C18, Supelcosil L C18 и Partisphere C18 являются примерами продукции, имеющейся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является одобрением данной продукции со стороны ISO.

5.3 Фильтр с размером пор 0,45 мкм.

5.4 Электрический колбонагреватель, подходящий для колб с круглым дном вместимостью 1 дм³.

5.5 Колба круглодонная вместимостью 1 дм³, со шлифом.

5.6 Противоударные гранулы.

5.7 Обратный холодильник с водяным контуром, со шлифом, предназначенный для присоединения к круглодонной колбе вместимостью 1 дм³.

5.8 Аналитические весы с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более $\pm 0,001$ г.

6 Отбор пробы

Необходимо, чтобы полученная проба была репрезентативной и не была повреждена при хранении и транспортировании.

Процедура отбора пробы настоящим стандартом не регламентируется. Рекомендуемые методы отбора проб по [1] для чая, по [2] — для растворимого чая.

7 Подготовка пробы

Измельчают пробу чая в соответствии с ISO 1572.

В измельчении пробы растворимого чая необходимости нет.

8 Методика проведения анализа

8.1 Общие положения

Необходимо убедиться в том, что удовлетворено требование к повторяемости. Проводят два испытания в соответствии с 8.2—8.6 при соблюдении условия повторяемости.

8.2 Определение массовой доли сухого вещества в пробе

Рассчитывают массовую долю сухого вещества исходя из массовой доли влаги, определенной по потере массы частью пробы при 103 °С в соответствии с ISO 1572 для чая, ISO 7513 — для растворимого чая.

8.3 Пробы для анализа

8.3.1 Чай

В круглодонную колбу (см. 5.5) отвешивают 1,0 г анализируемой пробы (см. раздел 7) с точностью $\pm 0,001$ г.

8.3.2 Растворимый чай

В круглодонную колбу (см. 5.5) отвешивают 0,5 г пробы (см. раздел 7) с точностью $\pm 0,001$ г.

8.4 Экстрагирование кофеина

8.4.1 В круглодонную колбу, содержащую подготовленную пробу чая, добавляют $(4,5 \pm 0,5)$ г оксида магния (см. 4.5), помещают несколько противоударных гранул (см. 5.6) и добавляют 300 см³ дистиллированной воды. Взвешивают колбу с содержимым с точностью до 0,1 г.

8.4.2 Перемешивают содержимое. Присоединяют к колбе обратный холодильник (см. 5.7), помещают колбу на электрический колбонагреватель (см. 5.4) и быстро доводят содержимое до кипения. Уменьшают мощность колбонагревателя и кипятят содержимое в течение 20 мин при периодическом перемешивании.

8.4.3 Снимают колбу с колбонагревателя и охлаждают содержимое до комнатной температуры. Вытирают внешнюю поверхность колбы от влаги и взвешивают колбу с содержимым с точностью до 0,1 г. Масса колбы с содержимым должна равняться значению, полученному в 8.4.1. Если значения различаются, добавляют соответствующее количество дистиллированной воды так, чтобы масса достигла значения, полученного в 8.4.1, и перемешивают содержимое.

8.4.4 Дают раствору отстояться, отбирают примерно 10 см³ экстракта и фильтруют через фильтр (см. 5.3).

8.5 Разбавление (для чая и растворимого чая с нормальным содержанием кофеина)

С помощью пипетки помещают 1,0 см³ фильтрата, полученного по 8.4.4, в мерную колбу вместимостью 10 см³. Добавляют дистиллированную воду до метки и перемешивают.

Для декофеинизированных чаев разбавление не проводят.

8.6 Проведение анализа

8.6.1 Подготовка хроматографа

Готовят хроматограф в соответствии с рекомендациями изготовителя и устанавливают следующие параметры хроматографического разделения:

- скорость потока подвижной фазы (см. 4.3): от 0,5 до 1,5 см³/мин в зависимости от используемой колонки (см. 5.2);

- температура колонки (см. 5.2): оптимальное значение 40,0 °С (с учетом 4.3).

8.6.2 Хроматографический анализ

Убедившись в стабильности скорости потока подвижной фазы (см. 4.3) и температуры колонки, вводят в колонку по 0,02 см³ стандартных растворов кофеина А, В, С и D (см. 4.7.1—4.7.4), а затем такой же объем анализируемого раствора, полученного в соответствии с 8.4.4 для декофеинизированного чая, в соответствии с 8.5 — для листового и растворимого чая с нормальным содержанием кофеина. Периодически повторяют введение стандартных растворов (обычно после 6 анализируемых растворов). Записывают данные для всех пиков, соответствующих стандартным и анализируемым растворам.

9 Обработка результатов

Идентифицируют пики, соответствующие стандартным и анализируемым растворам, и измеряют их высоту или площадь (площади предпочтительнее). Для стандартных растворов кофеина строят линейную калибровочную зависимость стандартной концентрации кофеина (мкг/см³) от площади или высоты пиков. Автоматически (с помощью системы сбора данных) или вручную (по выбранным точкам на линии калибровочной зависимости) вычисляют коэффициент отклика RF

$$RF = \frac{C_{std}}{A_{std}} \text{ или } RF = \frac{C_{std}}{h_{std}}, \quad (2)$$

где C_{std} — концентрация стандартного раствора кофеина, в мкг/см³;

A_{std} — площадь пика, полученного для стандартного раствора кофеина;

h_{std} — высота пика, полученного для стандартного раствора кофеина.

Содержание кофеина w , массовая доля (в процентах), приведенная к содержанию сухого вещества в пробе, вычисляют по формуле

$$w = A_{smp} \cdot RF \cdot \frac{300d}{m} \cdot \frac{100}{w_{DM}} \cdot \frac{100}{1000000} \quad (3)$$

или

$$w = h_{smp} \cdot RF \cdot \frac{300d}{m} \cdot \frac{100}{w_{DM}} \cdot \frac{100}{1000000}, \quad (4)$$

где A_{smp} — площадь пика, полученного для анализируемого раствора;

RF — коэффициент отклика для кофеина;

d — коэффициент разбавления (10 для чая и чая растворимого);

m — масса пробы, в граммах;

w_{DM} — содержание сухого вещества в пробе (массовая доля в процентах), определяемое в соответствии с 8.2;

h_{smp} — высота пика, полученного для анализируемого раствора.

10 Прецизионность

10.1 Межлабораторные испытания

Подробности межлабораторных испытаний для определения прецизионности метода приведены в приложении А. Значения, полученные в результате этих межлабораторных испытаний, могут быть неприменимы к диапазонам концентраций и образцам, отличным от указанных.

10.2 Повторяемость

Абсолютное значение разности результатов двух независимых испытаний, проведенных с использованием одного и того же метода на одном и том же образце в одной и той же лаборатории на одном и том же оборудовании одним и тем же оператором в течение небольшого промежутка времени, не должно превышать значения предела повторяемости r , приведенного в таблице А.1, более чем в 5 % испытаний.

10.3 Воспроизводимость

Абсолютное значение разности результатов двух независимых испытаний, проведенных с использованием одного и того же метода на одном и том же образце в различных лабораториях на различном оборудовании разными операторами, не должно превышать значения предела воспроизводимости R , приведенного в таблице А.1, более чем в 5 % испытаний.

11 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать:

- информацию, необходимую для идентификации пробы;
- информацию о методе отбора пробы;
- информацию о методе испытания со ссылкой на настоящий стандарт;
- детали испытания, не установленные в данном стандарте, или считающиеся необязательными, а также подробности всех обстоятельств, которые могут повлиять на результат;
- результаты испытаний;
- полученный окончательный результат, если проводилась проверка повторяемости.

Приложение А
(справочное)

Результаты межлабораторных испытаний

В межлабораторных испытаниях, проведенных в 1999 г. под эгидой Международной организации стандартизации, были получены результаты (оцененные в соответствии с [3]), которые приведены в таблице А.1.

Т а б л и ц а А.1 — Значения пределов повторяемости и воспроизводимости

| Показатели | Проба ¹⁾ | | | | | | | |
|--|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Количество лабораторий | 11 | | | | | | | |
| Количество принятых результатов | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 7 | 8 | 8 |
| Среднее содержание кофеина, массовая доля, % | 4,120 | 3,932 | 0,256 | 0,091 | 0,118 | 0,260 | 7,729 | 5,116 |
| Стандартное отклонение повторяемости, S_r | 0,1029 | 0,1182 | 0,0096 | 0,0054 | 0,0071 | 0,0104 | 0,2964 | 0,1132 |
| Коэффициент вариации повторяемости, % | 2,50 | 3,01 | 3,75 | 5,93 | 6,02 | 4,00 | 3,84 | 2,21 |
| Предел повторяемости $r (= 2,8 S_r)$ | 0,288 | 0,331 | 0,027 | 0,015 | 0,020 | 0,029 | 0,830 | 0,317 |
| Стандартное отклонение воспроизводимости S_R | 0,1650 | 0,1564 | 0,0121 | 0,0079 | 0,0071 | 0,0140 | 0,3557 | 0,2361 |
| Коэффициент вариации воспроизводимости, % | 4,01 | 3,98 | 4,74 | 8,68 | 6,02 | 5,37 | 4,60 | 4,61 |
| Предел воспроизводимости $R (= 2,8 S_R)$ | 0,462 | 0,438 | 0,034 | 0,022 | 0,020 | 0,039 | 0,996 | 0,661 |
| ¹⁾ Проба 1: Листовой зеленый чай Проба 2: Листовой черный чай Проба 3: Декофеинизированный листовой черный чай Проба 4: Декофеинизированный листовой черный чай Проба 5: Декофеинизированный листовой черный чай Проба 6: Декофеинизированный растворимый черный чай Проба 7: Растворимый черный чай Проба 8: Растворимый черный чай | | | | | | | | |

**Приложение ДА
(справочное)**

**Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов
межгосударственным стандартам**

Таблица ДА.1

| Обозначение ссылочного международного стандарта | Степень соответствия | Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта |
|---|----------------------|---|
| ISO 1572:1980 | IDT | ГОСТ ISO 1572—2013 Чай. Метод приготовления измельченной пробы и определения содержания сухого вещества |
| ISO 3696:1987 | — | * |
| ISO 7513:1990 | — | *,1) |
| <p>* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта.</p> <p>П р и м е ч а н и е — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандарта:</p> <p>- IDT — идентичный стандарт.</p> | | |

1) В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 7513—2012 «Чай растворимый. Метод определения массовой доли влаги (потеря массы при 103 °С)», идентичный ГОСТ ISO 1713:1990.

Библиография

- [1] ISO 1839:1980 Tea; Sampling (Чай. Отбор проб)
[2] ISO 7516:1984 Instant tea in solid form; Sampling (Чай быстрорастворимый в твердой форме. Отбор проб)
[3] ISO 5725-2:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 2. Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений)

УДК 663.95:006.354

МКС 67.140.10

Ключевые слова: чай, растворимый чай, метод определения содержания кофеина

Редактор *Ю.А. Расторгуева*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 25.11.2019. Подписано в печать 05.12.2019. Формат 60×84¹/₈. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,12.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru