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

gost.e-ecolog.ru

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 «СТАНДАРТИНФОРМ»

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
© Стандартинформ, 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

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

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 см^3 метанола (см. 4.2) в мерную колбу вместимостью 2 дм^3. 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 °С.

Издание официальное

4.4 Этанол, 25% (об.) водный раствор.

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

Примечание — Использование легкого оксида магния может привести к ошибкам в определении кофеина.

4.6 Кофеин, исходный раствор массовой концентрации 500 мкг/см^3.

Взвешивают 0,125 г кофеина с точностью ± 0,001 г в мерную колбу вместимостью 250 см^3. 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 A, B, C и D готовят в день использования.

4.7.1 Кофеин, стандартный раствор A массовой концентрации 15 мкг/см^3.

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

4.7.2 Кофеин, стандартный раствор B массовой концентрации 10 мкг/см^3.

Следуют процедуре, приведенной в 4.7.1, но отбирают пипеткой 2,0 см^3 исходного раствора кофеина (см. 4.6).

4.7.3 Кофеин, стандартный раствор C массовой концентрации 5 мкг/см^3.

Следуют процедуре, приведенной в 4.7.1, но отбирают пипеткой 1,0 см^3 исходного раствора кофеина (см. 4.6).

4.7.4 Кофеин, стандартный раствор D массовой концентрации 2 мкг/см^3.

С помощью пипетки переносят 20 см^3 стандартного раствора кофеина B (см. 4.7.2) в мерную колбу объемом 100 см^3. 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.

Примечание — 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 C18 (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

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

где t — время удерживания пика;

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

Примечание — 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 систему 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 $дм^3$.

5.5 Колба круглодонная вместимостью 1 $дм^3$, со шлифом.

5.6 Противоударные гранулы.

5.7 Обратный холодильник с водяным контуром, со шлифом, предназначенный для присоединения к круглодонной колбе вместимостью 1 $дм^3$.

5.8 Аналитические весы с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более ± 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 ± 0,001 г.

8.3.2 Растворимый чай

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

8.4 Экстрагирование кофеина

8.4.1 В круглодонную колбу, содержащую подготовленную пробу чая, добавляют (4,5 ± 0,5) г оксида магния (см. 4.5), помещают несколько противоударных гранул (см. 5.6) и добавляют 300 $см^3$ 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 $см^3$ 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 см^3 фильтрата, полученного по 8.4.4, в мерную колбу вместимостью 10 см^3. 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 см^3/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 см^3 стандартных растворов кофеина A, B, C 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/см^3) 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/см^3;

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

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

или

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

где A_{samp} — 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_{samp} — 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.

Таблица 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)

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта.

Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандарта:

- IDT — идентичный стандарт.

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 60×84 1/8. 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

gost.e-ecolog.ru

Поправка к ГОСТ ISO 10727—2013 Чай и чай растворимый. Определение содержания кофеина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 6 2019 г.)

gost.e-ecolog.ru