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 °С))

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.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru