

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
ISO 14502-2—  
2015

---

## ЧАЙ

### Метод определения содержания катехинов

(ISO 14502-2:2005,  
Determination of substances characteristic of green and black tea —  
Part 2: Content of catechins in green tea —  
Method using high-performance liquid chromatography,  
IDT)

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2016

## Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

### Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 октября 2015 г. № 81-П)

За принятие голосовали:

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
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 ноября 2015 г. № 1811-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 14502-2—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 14502-2:2005 «Определение характеристик субстанций зеленого и черного чая. Часть 2. Общее содержание катехинов в зеленом чае. Метод с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии» («Determination of substances characteristic of green and black tea — Part 2: Content of catechins in green tea — Method using high-performance liquid chromatography», IDT).

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 общепринятой терминологией и ГОСТ 1.5 (подраздел 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

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет*

© Стандартиформ, 2016

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 . . . . .	4
6 Отбор проб . . . . .	5
7 Подготовка пробы . . . . .	5
8 Проведение измерения . . . . .	5
8.1 Общие положения . . . . .	5
8.2 Вычисление массовой доли сухого вещества . . . . .	5
8.3 Проба для измерения . . . . .	5
8.4 Экстрагирование полифенолов . . . . .	6
8.5 Разбавление . . . . .	6
8.6 Проведение измерения . . . . .	6
9 Обработка результатов . . . . .	7
9.1 Общие положения . . . . .	7
9.2 Количественное определение с использованием стандартных образцов катехинов . . . . .	7
9.3 Количественное определение с использованием стандартного образца кофеина и коэффициентов относительной чувствительности ( <i>RRF</i> ) катехинов . . . . .	8
10 Прецизионность . . . . .	8
10.1 Межлабораторные испытания . . . . .	8
10.2 Повторяемость . . . . .	8
10.3 Воспроизводимость . . . . .	9
11 Протокол испытаний . . . . .	9
Приложение А (справочное) Результаты межлабораторных испытаний . . . . .	10
Приложение В (справочное) Оценка чистоты стандартных образцов . . . . .	11
Приложение С (справочное) Пример хроматограммы . . . . .	12
Приложение D (справочное) Влияние присутствия ионов железа на коэффициенты относительной чувствительности катехинов . . . . .	14
Приложение E (справочное) Количественное сравнение. Использование стандартных образцов катехинов и стандартного образца кофеина в сочетании с <i>RRF</i> катехинов . . . . .	16
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам . . . . .	18
Библиография . . . . .	19

## МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

## ЧАЙ

## Метод определения содержания катехинов

Tea. Determination of catechins

Дата введения — 2017—01—01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для определения (измерения) общего содержания катехинов в чае, исходя из суммы индивидуальных катехинов. Настоящий стандарт распространяется на листовый и растворимый зеленый чай и на черный чай (см. приложение А).

Метод может быть также применен для определения галловой кислоты и кофеина, а также теогаллина и теафлавинов.

## 2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные нормативные документы являются обязательными при применении настоящего документа. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного документа, для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного документа (включая все его изменения).

ISO 1572 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 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 град. C)]

## 3 Сущность метода

Катехины экстрагируют из измельченной пробы листового чая 70 %-ным раствором метанола при температуре 70 °C. Пробу растворимого чая растворяют в горячей воде с добавлением раствора ацетонитрила объемной долей 10 % для стабилизации экстракта. Индивидуальные катехины в экстракте определяют методом ВЭЖХ на колонке с фенильным сорбентом, используя градиентное элюирование с ультрафиолетовым детектированием при длине волны 278 нм. Для количественного определения используют метод внешнего стандарта. Стандартные образцы катехинов установленной чистоты и с известным содержанием влаги можно использовать без дополнительной подготовки. Как альтернатива, в качестве внешнего стандарта может применяться кофеин с учетом значений коэффициентов относительной чувствительности (*RRF*) индивидуальных катехинов, установленных международным межлабораторным испытанием ISO.

## 4 Реактивы

Используют реактивы только известной степени чистоты.

4.1 Вода, 1-й степени чистоты по ISO 3696.

4.2 Ацетонитрил класса для ВЭЖХ.

4.3 Метанол.

4.4 Кислота уксусная ледяная, класса для ВЭЖХ.

#### 4.5 Метанол, водный раствор для экстракции объемной долей 70 %

Вносят 700 см<sup>3</sup> метанола (см. 4.3) в мерную колбу вместимостью 1 дм<sup>3</sup> с одной меткой, доливают водой до метки (см. 4.1) и перемешивают.

#### 4.6 Раствор ЭДТА, массовой концентрации 10 мг/см<sup>3</sup>

(1,00 ± 0,01) г ЭДТА (двунариевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты, дигидрат) помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> с одной меткой, доливают примерно до половины колбы теплой водой. Перемешивают до полного растворения ЭДТА, охлаждают раствор до комнатной температуры, добавляют воду до метки и перемешивают.

Приготовленный раствор используют в течение одного дня.

#### 4.7 Раствор аскорбиновой кислоты, массовой концентрации 10 мг/см<sup>3</sup>

(1,00 ± 0,01) г L-аскорбиновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> с одной меткой, доливают примерно до половины колбы водой. Перемешивают до полного растворения аскорбиновой кислоты, добавляют воду до метки и перемешивают.

Приготовленный раствор используют в течение одного дня.

#### 4.8 Стабилизирующий раствор, состоящий из ацетонитрила объемной долей 10 %, раствора ЭДТА массовой концентрации 500 мкг/см<sup>3</sup> и аскорбиновой кислоты массовой концентрации 500 мкг/см<sup>3</sup>

Используя пипетку, переносят 25 см<sup>3</sup> раствора ЭДТА (см. 4.6), 25 см<sup>3</sup> раствора аскорбиновой кислоты (см. 4.7) и 50 см<sup>3</sup> ацетонитрила (см. 4.2) в мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup> с одной меткой, доливают воду до метки и перемешивают.

Приготовленный раствор используют в течение одного дня.

#### 4.9 Подвижные фазы

**Меры предосторожности — Следует использовать средства защиты глаз, перчатки и готовить реактивы в вытяжном шкафу.**

##### 4.9.1 Подвижная фаза А, состоящая из ацетонитрила объемной долей 9 %, уксусной кислоты объемной долей 2 %, раствора ЭДТА массовой концентрации 20 мкг/см<sup>3</sup>

180 см<sup>3</sup> ацетонитрила (см. 4.2) и 40 см<sup>3</sup> уксусной кислоты (см. 4.4) переносят в мерную колбу вместимостью 2 дм<sup>3</sup> с одной меткой, доливают до половины колбы воду и добавляют 4,0 см<sup>3</sup> раствора ЭДТА (см. 4.6). Доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм (см. 5.10).

##### 4.9.2 Подвижная фаза В, состоящая из ацетонитрила объемной долей 80 %, уксусной кислоты объемной долей 2 %, раствора ЭДТА массовой концентрации 20 мкг/см<sup>3</sup>

800 см<sup>3</sup> ацетонитрила (см. 4.2) и 20 см<sup>3</sup> уксусной кислоты (см. 4.4) переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм<sup>3</sup> с одной меткой, доливают примерно 100 см<sup>3</sup> воды, добавляют 2,0 см<sup>3</sup> раствора ЭДТА (см. 4.6). Добавляют воду до метки, перемешивают и фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм (см. 5.10).

#### 4.10 Исходные стандартные растворы

##### 4.10.1 Общие положения

Если имеются в наличии катехины известной чистоты, их можно использовать непосредственно в качестве внешних стандартов. Помимо установленной чистоты класса «для ВЭЖХ», важно, чтобы содержание влаги было также известно, поскольку высокие уровни содержания кристаллизационной воды не будут учтены при хроматографическом измерении. Данные о чистоте и содержании влаги в стандартных образцах, используемых в межлабораторном испытании, приведены в приложении В. Если отсутствуют полные данные о чистоте или они не могут быть определены, то содержащие катехин реагенты следует использовать только в качестве маркерных смесей в целях идентификации. В этих случаях количественный состав может быть установлен с использованием внешних стандартов кофеина в сочетании со значениями *RRF* индивидуальных катехинов (относительно кофеина), полученными в межлабораторных испытаниях (см. 9.3 и [3]).

**4.10.2 Кофеин, исходный стандартный раствор массовой концентрации 2,00 мг/см<sup>3</sup>**

(0,200 ± 0,001) г безводного кофеина помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> с одной меткой. Добавляют теплую воду до половины объема колбы. Перемешивают до полного растворения кофеина, охлаждают до комнатной температуры. Доводят до метки водой и перемешивают.

**4.10.3 Галловая кислота, исходный стандартный раствор массовой концентрации приблизительно 1,00 мг/см<sup>3</sup>**

(0,110 ± 0,001) г моногидрата галловой кислоты ( $M = 188,14$ ) помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> с одной меткой, доливают примерно до половины колбы водой. Перемешивают до полного растворения галловой кислоты, добавляют воду до метки и перемешивают.

Приготовленный раствор используют в течение одного дня.

**Примечание** — Предпочтительным является использование моногидрата галловой кислоты, вследствие его меньшей гигроскопичности, большей растворимости и наличия реактивов аттестованных классов чистоты, например класса ACS, который используют для обозначения реактивов, которые удовлетворяют требованиям, установленным Американским химическим обществом (*American Chemical Society — ACS*). Если содержание массовой доли воды в исходном реагенте неизвестно, оно должно быть определено по потере массы при температуре 103 °C с использованием части реагента.

**4.10.4 Приготовление индивидуальных исходных стандартных растворов катехинов**

Стандартные образцы катехинов помещают в количествах, приведенных в таблице 1, в отдельные мерные колбы с одной меткой. Растворяют в стабилизирующем растворе (см. 4.8), осторожно нагревая при необходимости (максимально до температуры 40 °C). Охлаждают до комнатной температуры, добавляют стабилизирующий раствор до метки и перемешивают.

Т а б л и ц а 1 — Исходные стандартные растворы катехинов

Компонент раствора	Масса стандартного образца, г	Объем стабилизирующего раствора, см <sup>3</sup>	Номинальная концентрация стандартного раствора, мг/см <sup>3</sup>
(+)-Катехин (C)	0,020 ± 0,001	20	1,0
(-)-Эпикатехин (EC)	0,020 ± 0,001	20	1,0
(-)-Эпигаллокатехин (EGC)	0,040 ± 0,001	20	2,0
(-)-Галлат эпигаллокатехина (EGCG)	0,040 ± 0,001	20	2,0
(-)-Галлат эпикатехина (ECG)	0,040 ± 0,001	20	2,0

Если имеется достаточное количество катехинов (т. е. более 20 мг), то для приготовления индивидуальных исходных растворов требуются аналитические весы с точностью взвешивания не менее 0,1 мг. Если количество катехинов недостаточно (т. е. менее 20 мг), требуются аналитические весы с точностью взвешивания не менее 0,01 мг.

**4.11 Градуировочные растворы****4.11.1 Раствор галловой кислоты массовой концентрации примерно 200 мкг/см<sup>3</sup>**

Используя пипетку, переносят 20 см<sup>3</sup> исходного раствора галловой кислоты (см. 4.10.3) в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> с одной меткой. Добавляют стабилизирующий раствор (см. 4.8) до метки и перемешивают.

**4.11.2 Смешанные градуировочные растворы**

Готовят три смешанных градуировочных раствора A, B и C, содержащих кофеин, галловую кислоту и катехины, которые используют в качестве внешних стандартов или маркеров. С помощью пипеток переносят исходный раствор кофеина (см. 4.10.2), градуировочный раствор галловой кислоты (см. 4.11.1) и исходные растворы индивидуальных катехинов (см. 4.10.4) в объемах, указанных в таблице 2, в три отдельные мерные колбы вместимостью 20 см<sup>3</sup> с одной меткой. Добавляют стабилизирующий раствор (см. 4.8) до метки и перемешивают. С помощью пипетки переносят по 1,0 см<sup>3</sup> смешанного градуировочного раствора в маркированные флаконы, изготовленные из темного стекла. Осторожно продувают азотом, закрывают и хранят замороженными при температуре минус 20 °C. Номинальные концентрации компонентов эталонных растворов A, B и C приведены в таблице 3.

Т а б л и ц а 2 — Приготовление смешанных градуировочных растворов

Компонент раствора	Раствор	Объем, требуемый для приготовления 20 см <sup>3</sup> смешанного градуировочного раствора, см <sup>3</sup>		
		A	B	C
Кофеин	Исходный раствор кофеина концентрацией 2,00 мг/см <sup>3</sup> (см. 4.10.2)	0,5	1,0	1,5
Галловая кислота	Разбавленный раствор галловой кислоты концентрацией 200 мкг/см <sup>3</sup> (см. 4.11.1)	0,5	1,0	2,5
+C	Исходный раствор +C концентрацией 1,0 мг/см <sup>3</sup> (см. 4.10.4)	1,0	2,0	3,0
EC	Исходный раствор EC концентрацией 1,0 мг/см <sup>3</sup> (см. 4.10.4)	1,0	2,0	3,0
EGC	Исходный раствор EGC концентрацией 2,0 мг/см <sup>3</sup> (см. 4.10.4)	1,0	2,0	3,0
EGCG	Исходный раствор EGCG концентрацией 2,0 мг/см <sup>3</sup> (см. 4.10.4)	1,0	2,0	4,0
ECG	Исходный раствор ECG концентрацией 2,0 мг/см <sup>3</sup> (см. 4.10.4)	0,5	1,0	2,0

Т а б л и ц а 3 — Номинальные концентрации смешанных градуировочных растворов

Компонент раствора	Номинальная концентрация, мкг/см <sup>3</sup>		
	A	B	C
Галловая кислота	5	10	25
Кофеин	50	100	150
+C	50	100	150
EC	50	100	150
EGC	100	200	300
EGCG	100	200	400
ECG	50	100	200

При использовании катехинов неизвестных классов чистоты необходимо провести их индивидуальную оценку методом ВЭЖХ для определения содержания примесей, которые могут являться причиной возникновения интерферирующих пиков.

**П р и м е ч а н и е** — Значения номинальных концентраций смешанных градуировочных растворов A, B и C, приведенные в таблице 3, выбраны таким образом, чтобы соответствовать диапазону типичных значений концентрации компонентов в чае.

Вычисляют фактические безводные концентрации на основе масс, использованных для приготовления исходных растворов с учетом содержания влаги в стандартных образцах.

Смешанные рабочие градуировочные растворы A, B и C стабильны по крайней мере в течение 2 мес при хранении замороженными при температуре минус 20 °С. Для каждой серии измерений размораживают только необходимое количество флаконов со смешанными рабочими градуировочными растворами. Неиспользованные растворы выбрасывают и повторно не замораживают.

## 5 Оборудование

Используют обычное лабораторное оборудование:

5.1 Весы аналитические, обеспечивающие точность взвешивания  $\pm 0,001$  г.

5.2 Баня водяная, обеспечивающая поддержание температуры  $(70 \pm 1)$  °С.

5.3 Дозатор для водного раствора метанола, установленный на объем дозирования 5 см<sup>3</sup>.

5.4 Центрифуга, обеспечивающая относительное центробежное ускорение 2000 (обычно с частотой вращения 3500 об/мин).

5.5 Шейкер вихревого типа для эффективного перемешивания при экстракции.

5.6 Пробирки центрифужные для экстрагирования вместимостью 10 см<sup>3</sup> с пробкой.

5.7 Пробирки градуированные вместимостью 10 см<sup>3</sup> с ценой деления 0,1 см<sup>3</sup>.

5.8 Колбы мерные с одной меткой вместимостью 5, 10, 20, 100, 500 см<sup>3</sup>, 1 и 2 дм<sup>3</sup>.

5.9 Пипетки автоматические или стеклянные, охватывающие диапазон объемов для градуировочных растворов и измеряемых экстрактов проб.

5.10 Фильтры мембранные с размером пор 0,45 мкм для фильтрации подвижных фаз и разбавленных экстрактов проб.

**Примечание** — Могут использоваться фильтры, изготовленные из нейлона и фторопласта.

Необходимо удостовериться, что на фильтрах не происходит удерживание катехинов.

5.11 Хроматограф высокоэффективный жидкостный, обеспечивающий выполнение бинарного градиентного элюирования, оснащенный термостатом колонок и УФ детектором, установленным на 278 нм.

5.12 Система сбора/регистрации данных.

5.13 Колонка хроматографическая для ВЭЖХ.

**Примечание** — Фенильные сорбенты обладают более высокой селективностью по сравнению с обращенно-фазовыми материалами, что обеспечивает лучшее разрешение по катехинам. Приведенные в настоящем стандарте условия хроматографирования и состав подвижной фазы (см. 4.9) пригодны при использовании колонки Phenomenex Luna 5 мкм Phenyl-Hexyl® размером 250 × 4,6 мм, снабженной картриджем Phenomenex SecurityGuard® 4 × 3,0 мм Pyenyl-Hexyl. При использовании колонок другого типа может потребоваться модификация состава подвижной фазы и условий хроматографирования. Данная информация является рекомендуемой, приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования других картриджей с аналогичными характеристиками.

## 6 Отбор проб

В лабораторию должна быть отправлена репрезентативная проба. Повреждения или изменения во время транспортирования или хранения недопустимы.

Отбор проб настоящим стандартом не устанавливается. Рекомендуемые методы отбора проб описаны:

- в ISO 1839 — для листового чая;
- ISO 7516 — для растворимого чая.

## 7 Подготовка пробы

Для обеспечения однородности листового чая измельчают по ISO 1572 и хранят в герметичных емкостях, обеспечивающих защиту от действия света.

Измельчение растворимого чая необходимо в случае, если он содержит крупные частицы (например, чай, изготовленный по технологии сублимационной сушки).

## 8 Проведение измерения

### 8.1 Общие положения

Если требуется проверка предела повторяемости результатов измерений (см. 10.2), проводят два последовательных измерения в соответствии с 8.2—8.6 при соблюдении условий повторяемости.

### 8.2 Вычисление массовой доли сухого вещества

Вычисляют массовую долю сухого вещества в пробе (см. раздел 7) по массовой доле влаги (по потере массы при температуре 103 °С), вычисленной в соответствии:

- с ISO 1572 — для листового чая;
- ISO 7513 — для растворимого чая.

### 8.3 Проба для измерения

#### 8.3.1 Растворимый чай

(0,500 ± 0,001) г пробы, подготовленной в соответствии с разделом 7, помещают в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> с одной меткой.



### 8.3.2 Листовой чай

( $0,200 \pm 0,001$ ) г пробы, подготовленной в соответствии с разделом 7, помещают в центрифужную пробирку для экстрагирования (см. 5.6).

## 8.4 Экстрагирование полифенолов

### 8.4.1 Растворимый чай

8.4.1.1 Добавляют в мерную колбу с пробой (см. 8.3.1) примерно  $25 \text{ см}^3$  горячей воды (максимальная температура  $60^\circ\text{C}$ ). Перемешивают до полного растворения пробы и охлаждают до комнатной температуры.

8.4.1.2 Добавляют  $5,0 \text{ см}^3$  ацетонитрила (см. 4.2) в мерную колбу (см. 8.4.1.1). Добавляют воду до метки и перемешивают.

### 8.4.2 Листовой чай

8.4.2.1 Дозатор (см. 5.3), содержащий водный раствор метанола (см. 4.5), помещают на водяную баню (см. 5.2), нагретую до температуры  $70^\circ\text{C}$ , и выдерживают не менее 30 мин.

8.4.2.2 Помещают пробирку с пробой (см. 8.3.2) на водяную баню, нагретую до температуры  $70^\circ\text{C}$ . Добавляют  $5,0 \text{ см}^3$  водного раствора метанола (см. 8.4.2.1), закрывают пробкой и перемешивают на шейкере вихревого типа (см. 5.5).

8.4.2.3 Нагревают пробирку на водяной бане в течение 10 мин, перемешивая содержимое на шейкере через 5 и 10 мин.

Для обеспечения полной экстракции необходимо тщательно перемешивать пробу.

8.4.2.4 Извлекают пробирку из водяной бани и охлаждают до комнатной температуры. Извлекают пробку из пробирки, помещают пробирку в центрифугу (см. 5.4) и центрифугируют в течение 10 мин при частоте вращения  $3500 \text{ об/мин}$ .

8.4.2.5 Аккуратно декантируют жидкость в градуированную пробирку (см. 5.7) или мерную колбу вместимостью  $10 \text{ см}^3$  с одной меткой (см. 5.8).

8.4.2.6 Повторяют экстракцию по 8.4.2.2—8.4.2.5. Объединяют две порции экстракта, доводят объем до  $10,0 \text{ см}^3$  холодным водным раствором метанола (см. 4.5) и перемешивают.

8.4.2.7 Экстракт, приготовленный по 8.4.2.6, хранят не более 24 ч при температуре  $4^\circ\text{C}$ . Перед проведением измерения экстракт доводят до комнатной температуры. При появлении в экстракте небольшого количества осадка его отделение не требуется.

## 8.5 Разбавление

С помощью пипетки помещают  $1,0 \text{ см}^3$  экстракта растворимого чая (см. 8.4.1.2) или листового чая (см. 8.4.2.6) в градуированную пробирку (см. 5.7). Разбавляют стабилизирующим раствором (см. 4.8) до  $5,0 \text{ см}^3$ . Перемешивают и фильтруют через фильтр с размером пор  $0,45 \text{ мкм}$  (см. 5.10).

## 8.6 Проведение измерения

### 8.6.1 Общие положения

Катехины сильно подвержены разрушению, основным фактором которого является загрязнение хроматографической системы ионами металлов (см. приложение D). Несмотря на то, что добавление ЭДТА к подвижной фазе способствует минимизации воздействия этого фактора, важно содержать в чистоте хроматографическую систему. Рекомендуется осторожно промывать систему, например, ацетонитрилом с объемной долей 50 % (рекомендуется предварительно промыть систему подходящей смесью растворителей в зависимости от предшествующего использования) до и после использования для удаления остатков буферных солей и кислот и предотвращения коррозии.

### 8.6.2 Настройка оборудования

Готовят хроматограф (см. 5.11) в соответствии с инструкциями изготовителя и устанавливают следующие параметры хроматографического разделения:

- а) скорость потока подвижной фазы (см. 4.9):  $1,0 \text{ см}^3/\text{мин}$ ;
- б) условия бинарного градиентного элюирования: 100 % подвижной фазы А (см. 4.9.1) в течение 10 мин, через 15 мин линейный градиент до состава 68 % подвижной фазы А и 32 % подвижной фазы В (см. 4.9.2), элюирование таким составом в течение 10 мин, повторное элюирование 100 % подвижной фазой А в течение 10 мин для достижения равновесия;
- в) температура колонки (см. 5.13):  $(35,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ . Поддержание температурного режима колонки обязательно (посредством термостата колонки или водяной рубашки), если нужно избежать значительных отклонений времени удерживания;

d) УФ детектор устанавливают на длину волны 278 нм. Необходимо обеспечить, чтобы диапазон чувствительности детектора соответствовал пикам наиболее концентрированного стандартного раствора *C* с учетом диапазона системы сбора данных.

### 8.6.3 Хроматографическое измерение

Как только скорость потока подвижной фазы (см. 4.9) и температура становятся стабильными, проводят холостой опыт в условиях градиентного элюирования по 8.6.2. Затем вводят в колонку по 10 мм<sup>3</sup> смешанных градуировочных растворов *A*, *B* и *C* с последующим введением равного объема экстракта пробы для измерения (см. 8.5). Введение смешанных рабочих градуировочных растворов повторяют с регулярными интервалами (обычно после шести экстрактов пробы). Регистрируют данные, используя систему сбора/интеграции данных (см. 5.12), для всех пиков смешанных градуировочных и определяемых растворов.

После каждой серии тщательно промывают хроматографическую систему и колонку ацетонитрилом с объемной долей 50 % (см. 8.6.1) и устанавливают на колонку заглушки, если ее отсоединяют для хранения.

### 8.6.4 Идентификация

Идентифицируют индивидуальные катехины путем сравнения времени удерживания на хроматограммах измеряемых проб с соответствующими значениями на хроматограммах смешанных градуировочных растворов при тех же условиях хроматографического разделения (см. 8.6.2). Диодно-матричное детектирование позволяет тщательно анализировать ультрафиолетовый профиль пиков катехинов и определить чистоту пиков, что может быть особенно полезно для определения низких уровней катехинов в черном чае.

**Примечание** — Если возможность получения маркерных смесей катехинов ограничена, идентификации способствует сравнение результатов измерения зеленого листового чая с типичной хроматограммой, приведенной в приложении С.

## 9 Обработка результатов

### 9.1 Общие положения

Количественное определение проводят методом внешнего стандарта с использованием:

- стандартных образцов индивидуальных катехинов установленной чистоты и с известным содержанием влаги или
- стандартного образца кофеина вместе с согласованными значениями *RRF* индивидуальных катехинов, измеренных относительно кофеина (см. 4.10.1 и 9.3).

### 9.2 Количественное определение с использованием стандартных образцов катехинов

9.2.1 Концентрацию компонента на безводной основе в каждом из смешанных градуировочных растворов *A*, *B* и *C* (см. 4.11.2) вычисляют с точностью до 0,1 г/см<sup>3</sup>.

9.2.2 Строят линейный градуировочный график для каждого компонента по безводным концентрациям (мкг/см<sup>3</sup>) относительно площадей пиков, полученных с помощью системы сбора/интеграции данных (см. 5.12), чтобы получить значение угла наклона и точки пересечения.

9.2.3 Содержание индивидуального компонента *w<sub>C</sub>*, выраженное в процентах по массе на основе сухого вещества в пробе, вычисляют по формуле

$$w_C = \frac{(A_{\text{sample}} - A_{\text{intercept}}) \cdot V_{\text{sample}} \cdot d \cdot 100}{S_{\text{std}} \cdot m_{\text{sample}} \cdot 10000 \cdot w_{\text{DM, sample}}},$$

где *A<sub>sample</sub>* — площадь пика, полученного для определяемого раствора;

*A<sub>intercept</sub>* — площадь пика в точке, где градуировочный график пересекает ось *y*;

*V<sub>sample</sub>* — объем экстракта пробы (50 см<sup>3</sup> для растворимого чая и 10 см<sup>3</sup> для листового чая), см<sup>3</sup>;

*d* — коэффициент разбавления (см. 8.5), обычно 5;

*S<sub>std</sub>* — угол наклона градуировочного графика;

*m<sub>sample</sub>* — масса пробы для измерения, г;

*w<sub>DM, sample</sub>* — массовая доля (содержание) сухого вещества в пробе, вычисленная по 8.2, %.

9.2.4 Общее содержание катехинов *w<sub>T</sub>*, выраженное как массовая доля в процентах на основе сухого вещества в пробе, вычисляют путем суммирования содержания индивидуальных катехинов (см. таблицу 4)

$$w_T = (\% \text{ EGC}) + (\% \text{ C}) + (\% \text{ EC}) + (\% \text{ EGCG}) + (\% \text{ EGC}).$$

### 9.3 Количественное определение с использованием стандартного образца кофеина и коэффициентов относительной чувствительности (*RRF*) катехинов

9.3.1 Значения *RRF* (измеренные относительно кофеина) для галловой кислоты и индивидуальных катехинов, полученные в международном межлабораторном испытании [3], приведены в таблице 4. Эти значения, полученные на эталонах известной чистоты и вычисленные в пересчете на сухое вещество, позволяют определить количественный состав относительно эталона кофеина. Сравнение результатов, полученных при использовании эталонов катехина и эталонов кофеина со значениями *RRF* катехинов, приведено в приложении Е.

Т а б л и ц а 4 — Значения коэффициентов относительной чувствительности

Компонент	Коэффициент относительной чувствительности ( <i>RRF</i> ), измеренный относительно кофеина (вычисленный в пересчете на сухое вещество)
Галловая кислота	0,84
(-)-Эпигаллокатехин (+C)	11,24
(+)-Катехин (EC)	3,58
(-)-Эпикатехин (EGC)	3,67
(-)-Галлат эпигаллокатехина (EGCG)	1,72
(-)-Галлат эпикатехина (ECG)	1,42

9.3.2 Строят линейный градуировочный график для кофеина по безводным концентрациям (мкг/см<sup>3</sup>) относительно площадей пиков кофеина, полученных для смешанных градуировочных растворов А, В и С, чтобы получить значение угла наклона и точки пересечения.

9.3.3 Содержание индивидуального компонента (см. 8.6.4), выраженное в процентах по массе на основе сухого вещества в пробе, вычисляют по формуле

$$w_c = \frac{(A_{\text{sample}} - A_{\text{intercept}}) \cdot F_{\text{std}} \cdot V_{\text{sample}} \cdot d \cdot 100}{S_{\text{caffeine}} \cdot m_{\text{sample}} \cdot 10000 \cdot w_{DM, \text{sample}}},$$

где  $A_{\text{sample}}$  — площадь пика, полученного для измеряемого раствора;

$A_{\text{intercept}}$  — площадь пика в точке, где градуировочный график пересекает ось у;

$F_{\text{std}}$  — коэффициент относительной чувствительности индивидуального компонента, измеренный относительно кофеина;

$V_{\text{sample}}$  — объем экстракта пробы (50 см<sup>3</sup> для растворимого чая и 10 см<sup>3</sup> для листового чая), см<sup>3</sup>;

$d$  — коэффициент разбавления (см. 8.5), обычно 5;

$S_{\text{caffeine}}$  — угол наклона градуировочного графика;

$m_{\text{sample}}$  — масса пробы для измерения, г;

$w_{DM, \text{sample}}$  — массовая доля (содержание) сухого вещества в пробе, вычисленная по 8.2, %.

9.3.4 Общее содержание катехинов  $w_T$ , выраженное как массовая доля в процентах на основе сухого вещества в пробе, вычисляют путем суммирования содержания индивидуальных катехинов (см. таблицу 4)

$$w_T = (\% \text{ EGC}) + (\% + \text{C}) + (\% \text{ EC}) + (\% \text{ EGCG}) + (\% \text{ EGC}).$$

## 10 Прецизионность

### 10.1 Межлабораторные испытания

Детали межлабораторных испытаний, проведенных для определения прецизионности метода, приведены в приложении А. Значения показателей прецизионности, полученные в межлабораторных испытаниях, применимы только для указанных матриц и средних значений общего содержания катехинов на основе сухого вещества в пробах этих матриц.

### 10.2 Повторяемость

Абсолютное значение разности двух независимых испытаний, проведенных с использованием одного и того же метода и на одном и том же испытуемом материале 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 значений предела повторяемости  $r$ , приведенных в таблице А.1, более чем в 5 % испытаний.

### 10.3 Воспроизводимость

Абсолютное значение разности двух испытаний, проведенных с использованием одного и того же метода и на одном и том же испытуемом материале в различных лабораториях на различном оборудовании разными операторами, не должно превышать значений предела воспроизводимости  $R$ , приведенных 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 настоящем стандарте или считающиеся необязательными, а также все подробности, которые могут повлиять на результат;
- результаты испытаний;
- полученный окончательный результат, если проводилась проверка предела повторяемости.

**Приложение А**  
**(справочное)**

**Результаты межлабораторных испытаний**

В межлабораторных испытаниях, проведенных в 1999—2002 гг. при содействии Международной организации по стандартизации, были получены статистические результаты (оцененные согласно ISO 5725-2), приведенные в таблицах А.1 и А.2.

**П р и м е ч а н и е** — Детали приведены в [3].

Результаты, приведенные в таблицах А.1 и А.2, были получены при определении количественного состава образцов чая с использованием стандартного образца кофеина в сочетании с согласованными значениями коэффициентов относительной чувствительности (*RRF*) индивидуальных катехинов. Результаты, приведенные в таблице А.1, были получены до рекомендации включать ЭДТА в подвижную фазу (см. приложение D), тогда как результаты в таблице А.2 были получены после включения ЭДТА в подвижную фазу. Общее содержание катехинов выражено в процентах на основе безводного стандарта и сухого вещества в пробе.

**Т а б л и ц а А.1** — Данные о прецизионности (без ЭДТА)

Образец	Образец 1 Зеленый лиственный чай	Образец 2 Зеленый лиственный чай	Образец 3 Черный лиственный чай	Образец 4 Черный лиственный чай
Количество лабораторий	14			
Количество принятых результатов	9	10	11	10
Среднее общее содержание катехинов на основе сухого вещества в пробе, % (масс.)	12,30	15,70	9,53	7,19
Стандартное отклонение повторяемости $S_r$	0,194	0,163	0,221	0,096
Коэффициент вариации повторяемости, %	1,58	1,05	2,32	1,32
Предел повторяемости $r$ ( $= 2,8 S_r$ )	0,54	0,47	0,62	0,26
Стандартное отклонение воспроизводимости $S_R$	0,888	1,664	1,066	0,925
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	7,22	10,60	11,19	12,87
Предел воспроизводимости $R$ ( $= 2,8 S_R$ )	2,49	4,66	2,98	2,58

**Т а б л и ц а А.2** — Данные о прецизионности (с добавлением ЭДТА в подвижную фазу)

Образец	Образец 1 Зеленый лиственный чай	Образец 2 Зеленый лиственный чай	Образец 3 Черный лиственный чай	Образец 4 Черный лиственный чай
Количество лабораторий	11			
Количество принятых результатов	9			
Среднее общее содержание катехинов на основе сухого вещества в пробе, % (масс.)	12,14	14,78	8,93	6,81
Стандартное отклонение повторяемости $S_r$	0,21	0,43	0,17	0,19
Коэффициент вариации повторяемости, %	1,75	2,93	1,87	2,75
Предел повторяемости $r$ ( $= 2,8 S_r$ )	0,58	1,21	0,47	0,52
Стандартное отклонение воспроизводимости $S_R$	1,21	1,33	0,67	0,58
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	10,00	8,97	7,52	8,48
Предел воспроизводимости $R$ ( $= 2,8 S_R$ )	3,40	3,70	1,88	1,62
<p><b>П р и м е ч а н и е</b> — Образцам 3 и 4 соответствуют черные листовые слабо ферментированные чаи Дарджилинг с умеренным содержанием катехина. При более интенсивной ферментации черные чаи имеют более низкое содержание катехина, и поэтому можно ожидать негативное воздействие на данные о прецизионности.</p>				

**Приложение В**  
**(справочное)**

**Оценка чистоты стандартных образцов**

Комплексная оценка чистоты стандартных образцов в дополнение к проверкам чистоты хроматографических пиков проведена на стандартных образцах, используемых для межлабораторного испытания. Полученные данные о чистоте стандартных образцов приведены в таблице В.1.

Т а б л и ц а В.1 — Данные о прецизионности (с добавлением ЭДТА в подвижную фазу)

Стандартный образец	Источник	Предоставленная информация о чистоте	Чистота, % ВЭЖХ <sup>1)</sup> (измеренная)	Чистота, % NMR <sup>2)</sup> (измеренная)	Влажность, % KF (измеренная)	Влажность, % (теоретическая формула, значение для сравнения)	
Галловая кислота +C	Sigma	Кристаллическая, безводная	100	—	1,7 <sup>3)</sup>	Безводная	0
	Sigma	Мин. 98 % 2H <sub>2</sub> O	99	92	8,0	1 H <sub>2</sub> O	9,6
						2 H <sub>2</sub> O	11,0
EC	Sigma	—	98	96	1,8	1 H <sub>2</sub> O	5,8
EGC	Выделено <sup>4)</sup>	Приблизительно 96 %	96	88	18,8	4 H <sub>2</sub> O	19,0
EGCG	Выделено <sup>4)</sup>	Приблизительно 95 %	99	91	14,4	4 H <sub>2</sub> O	13,6
ECG	Выделено <sup>4)</sup>	Приблизительно 97 %	99	89	13,4	4 H <sub>2</sub> O	14,0
<sup>1)</sup> Чистота ВЭЖХ определяется площадью пика полифенола как процент от общей площади пиков на хроматограмме. <sup>2)</sup> Чистота NMR, полученная путем подсчета протонов относительно стандартного образца кофеина. <sup>3)</sup> Содержание влаги определялось методом Карла Фишера, за исключением галловой кислоты, для которой содержание влаги определялось посредством высушивания в печи (потеря массы при температуре 103 °C). <sup>4)</sup> Выделение из растворимых компонентов зеленого чая путем экстрагирования этилацетатом, отделения с помощью гель-проникающей хроматографии, очистки методом препаративной ВЭЖХ.							

Приложение С  
(справочное)

Пример хроматограммы

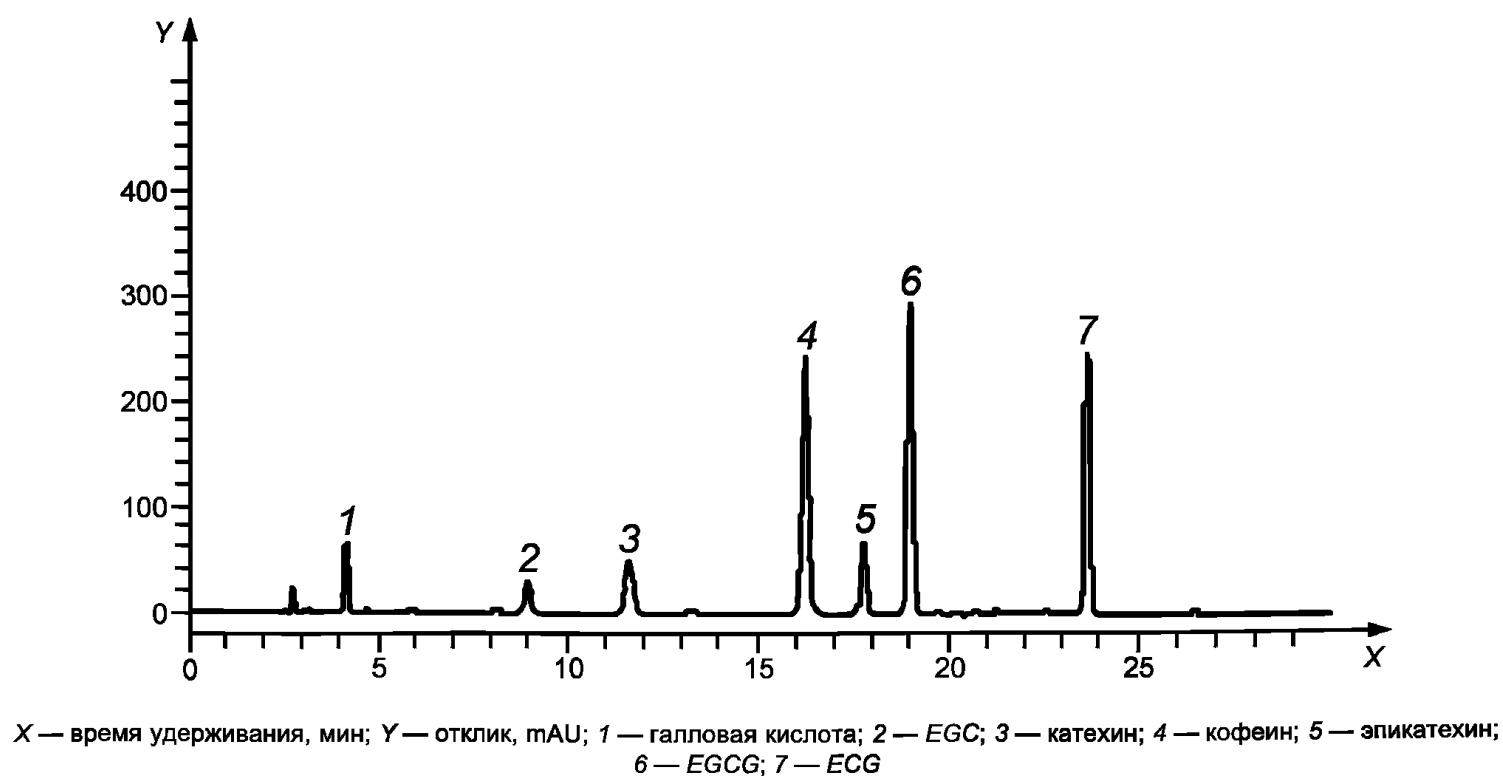


Рисунок С.1 — Смешанный градуировочный раствор В

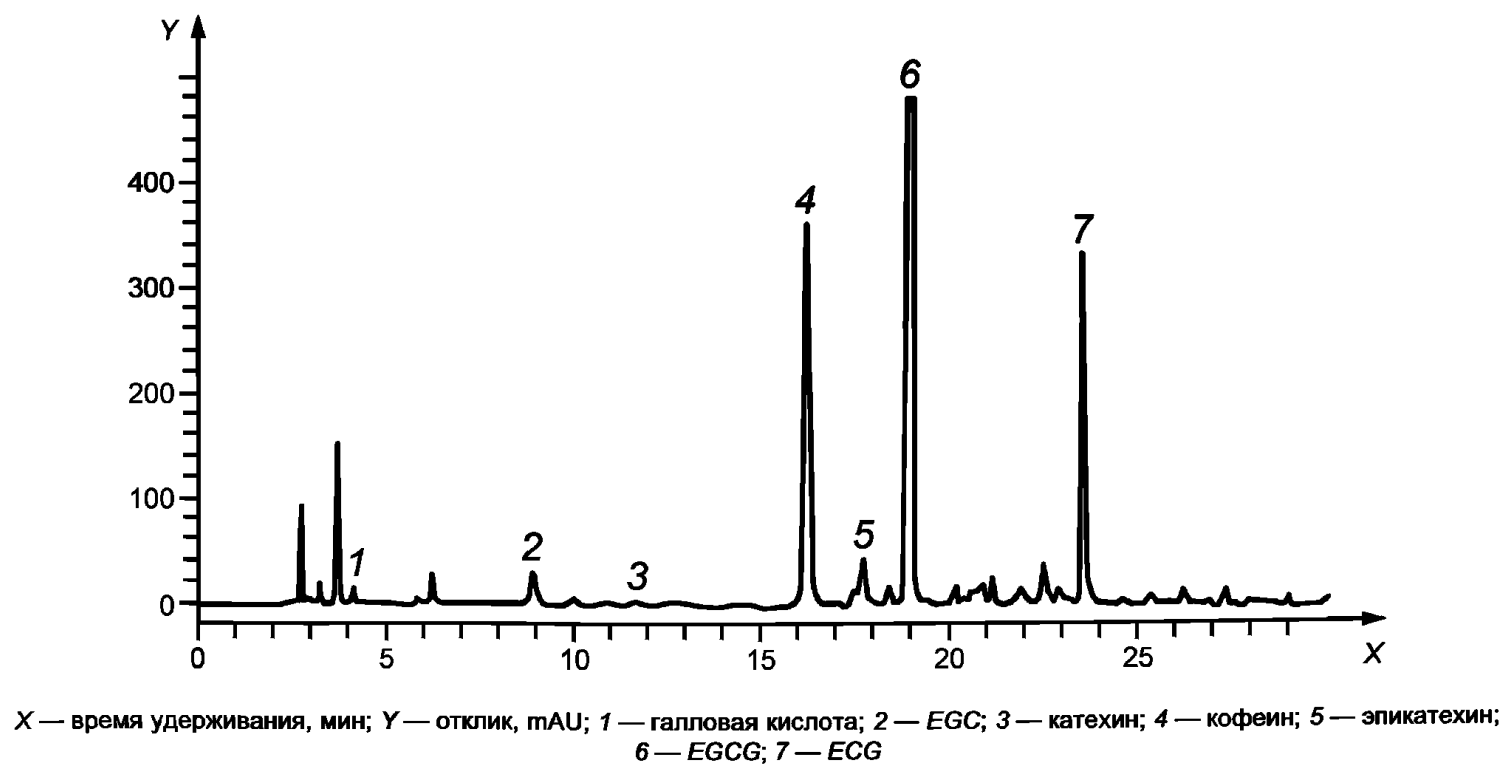
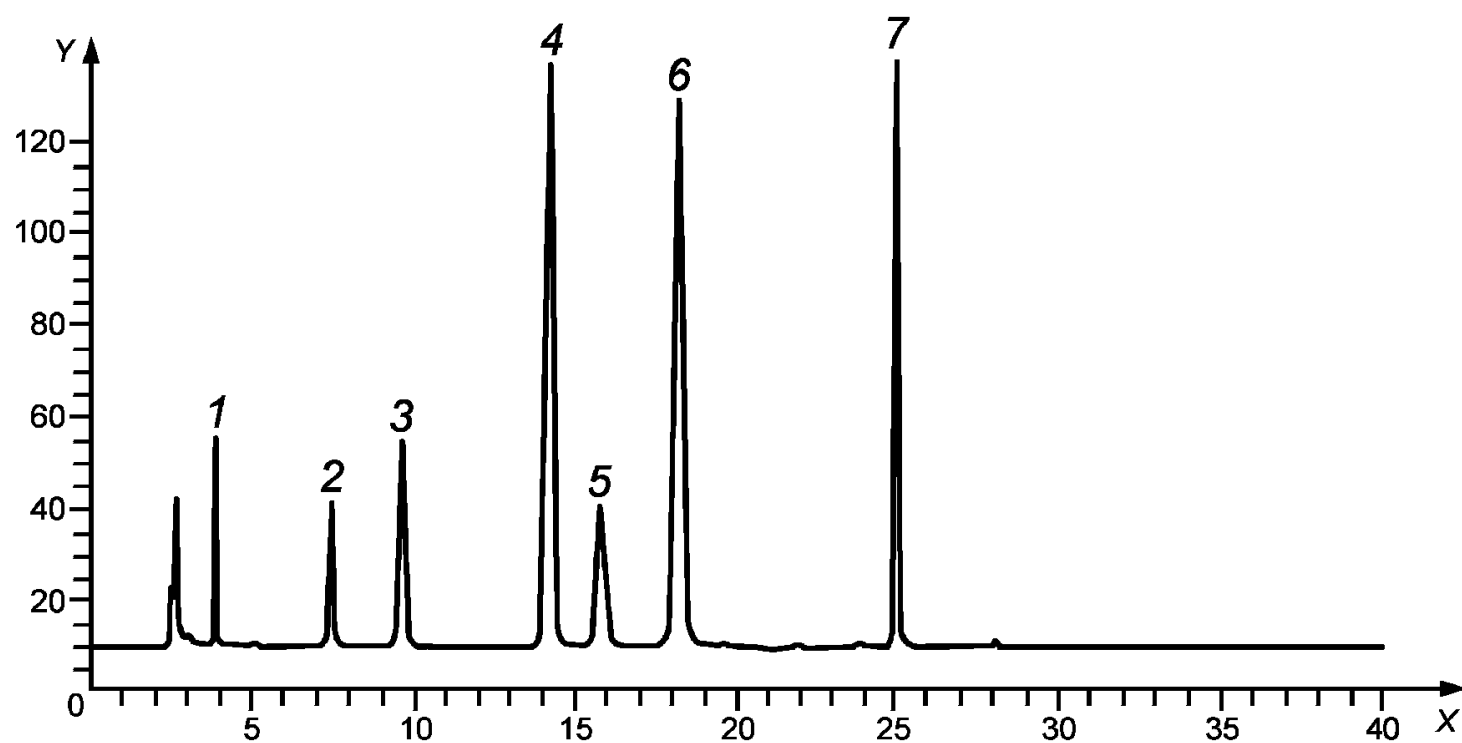
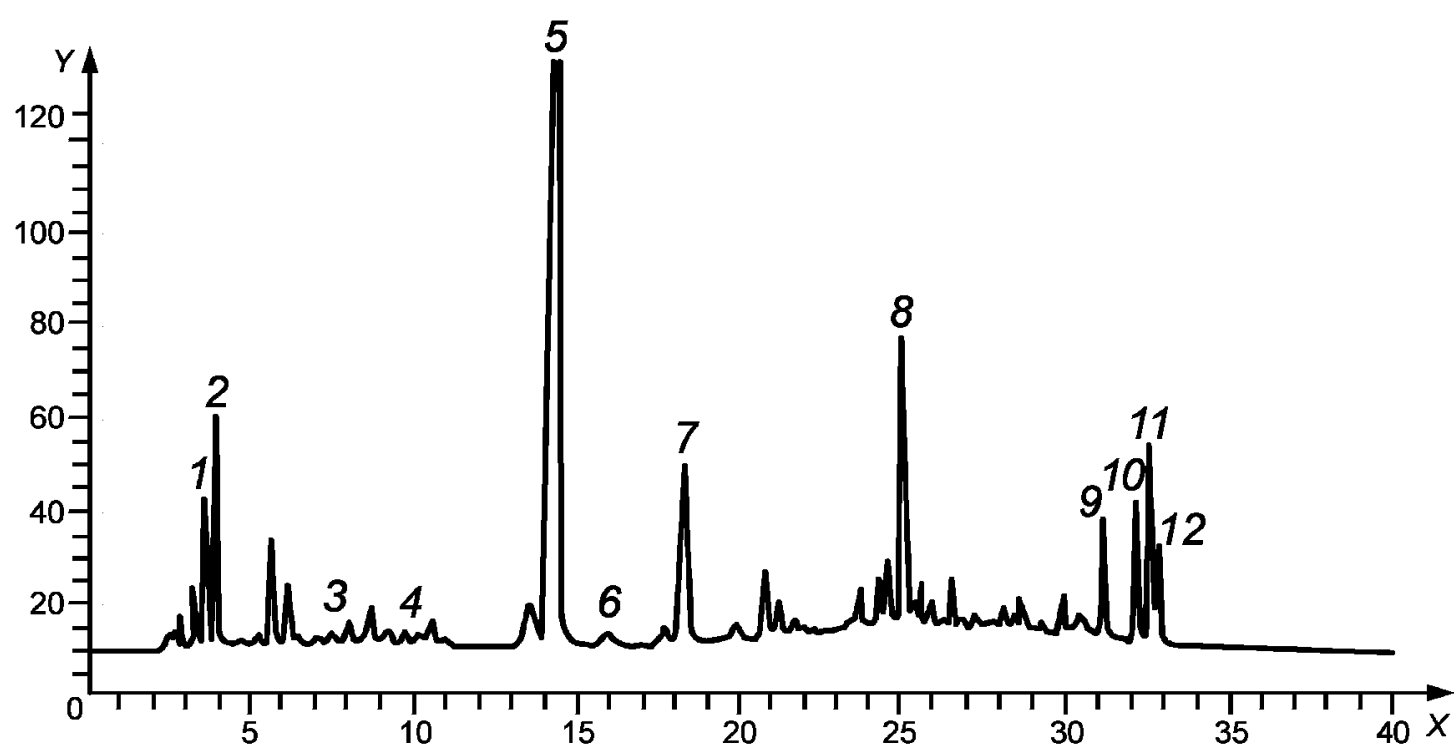


Рисунок С.2 — Экстракт зеленого листового чая



X — время удерживания, мин; Y — отклик, mAU; 1 — галловая кислота; 2 — EGC; 3 — катехин; 4 — кофеин; 5 — эпикатехин; 6 — EGCG; 7 — ECG

Рисунок С.3 — Смешанный градуировочный раствор катехинов



X — время удерживания, мин; Y — отклик, mAU; 1 — теогаллин; 2 — галловая кислота; 3 — EGC; 4 — катехин; 5 — кофеин; 6 — эпикатехин; 7 — EGCG; 8 — ECG; 9 — TF; 10 — TFDG; 11 — TF-3-MG; 12 — TF-3-MG

Рисунок С.4 — Экстракт черного листового чая



**Приложение D**  
**(справочное)**

**Влияние присутствия ионов железа на коэффициенты относительной чувствительности катехинов**

Результаты настоящего испытания, приведенные в таблице D.1 и на рисунках D.1 и D.2, показывают, что

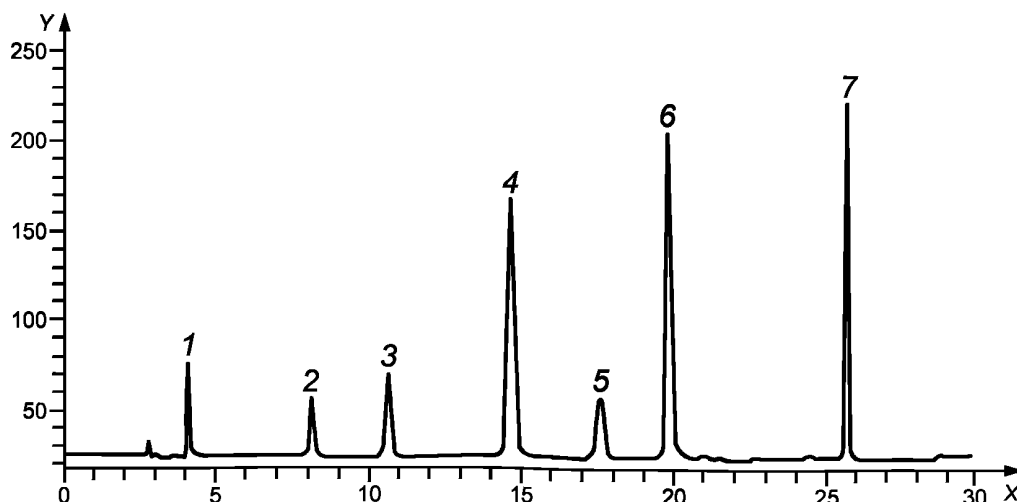
- низкие уровни ионов  $\text{Fe}^{3+}$  могут вызывать значительное разрушение катехинов в колонке;
- *EGCG* и *EGC* значительно больше подвержены разрушению;
- добавление  $20 \text{ мкг/см}^3$  ЭДТА в подвижную фазу эффективно изолирует ионы  $\text{Fe}^{3+}$  и предотвращает разрушение катехина;
- высокая степень соответствия (в пределах 5 %) была получена с согласованными коэффициентами чувствительности *RRF* после добавления ЭДТА;
- присутствие ЭДТА в эталоне смешанного катехина (из стабилизирующего раствора) не обеспечивает защиту от загрязненной хроматографической системы;
- очень важно поддерживать хроматографическую систему чистой, при этом включение ЭДТА в состав подвижной фазы способствует надежности метода.

**Т а б л и ц а D.1** — Влияние присутствия  $\text{Fe}^{3+}$  на значения *RRF* катехинов

Компонент	Коэффициент относительной чувствительности <i>RRF</i> , измеренный относительно кофеина (на основе сухого вещества)*				
	Согласованное значение <i>RRF</i>	После добавления $0,1 \text{ мкг/см}^3 \text{ Fe}^{3+}$	После добавления $0,5 \text{ мкг/см}^3 \text{ Fe}^{3+}$	После добавления $0,5 \text{ мкг/см}^3 \text{ Fe}^{3+}$ и $20 \text{ мкг/см}^3$ ЭДТА	После добавления $20 \text{ мкг/см}^3$ ЭДТА
Галловая кислота	0,84	0,84 [0]	1,05 [19]	0,81 [0]	0,81 [0]
<i>EGC</i>	11,26	16,38 [31]	24,64 [55]	11,79 [5]	11,79 [5]
+C	3,58	3,76 [5]	3,85 [7]	3,58 [0]	3,65 [2]
<i>EC</i>	3,67	3,99 [8]	3,92 [6]	3,75 [2]	3,88 [5]
<i>EGCG</i>	1,75	3,11 [45]	5,80 [70]	1,75 [0]	1,75 [0]
<i>ECG</i>	1,42	1,55 [8]	1,73 [18]	1,42 [0]	1,42 [0]

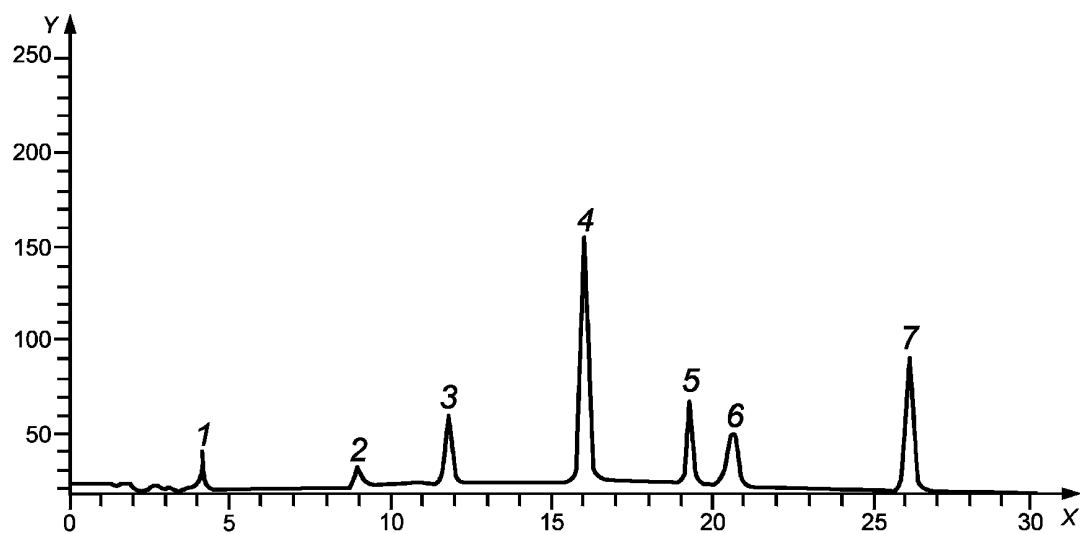
\* В квадратных скобках приведено снижение чувствительности по сравнению с согласованными значениями *RRF*.

**П р и м е ч а н и е** — В качестве источника ионов  $\text{Fe}^{3+}$  использовался  $\text{FeCl}_3$ .



X — время удерживания, мин; Y — отклик, мАУ; 1 — галловая кислота; 2 — *EGC*; 3 — катехин; 4 — кофеин; 5 — эпикатехин; 6 — *EGCG*; 7 — *ECG*

**Рисунок D.1** — Смешанный градуировочный раствор B (при исходных условиях хроматографического разделения без добавления ЭДТА)



$X$  — время удерживания, мин;  $Y$  — отклик, мАУ; 1 — галловая кислота; 2 — EGC; 3 — катехин; 4 — кофеин; 5 — эпикатехин; 6 — EGCG; 7 — ECG

Рисунок D.2 — Смешанный градуировочный раствор В (после добавления  $0,5 \text{ мкг/см}^3 \text{ Fe}^{3+}$  к мобильной фазе)

**Приложение Е**  
**(справочное)**

**Количественное сравнение. Использование стандартных образцов катехинов и стандартного образца кофеина в сочетании с *RRF* катехинов**

Результаты, приведенные в таблицах Е.1 и Е.2, показывают высокую степень соответствия результатов анализа при сравнении на той же основе, т. е. на основе безводного стандартного образца и сухого вещества в пробе.

**П р и м е ч а н и е** — Значения были вычислены по статистически приемлемому набору данных, приведенному в [3]:

- данные для стандартных образцов первоначально получены на основе полного состава, затем пересчитаны на безводной основе (см. приложение В);
- согласованные значения *RRF* (см. приложение D) были вычислены на основе безводных стандартных образцов.

**Т а б л и ц а Е.1** — Сравнение средних значений, полученных в межлабораторных испытаниях зеленого листового чая

Компонент	Зеленый листовый чай 1			Зеленый листовый чай 2		
	Стандартный образец катехина		Стандартный образец кофеина совместно с <i>RRF</i>	Стандартный образец катехина		Стандартный образец кофеина совместно с <i>RRF</i>
	На основе сухого вещества в пробе, %	На основе безводного стандартного образца и сухого вещества в пробе, %	На основе безводного стандартного образца и сухого вещества в пробе, %	На основе сухого вещества в пробе, %	На основе безводного стандартного образца и сухого вещества в пробе, %	На основе безводного стандартного образца и сухого вещества в пробе, %
Галловая кислота	0,10	0,10	0,13	0,08	0,08	0,10
Кофеин	4,18	4,18	4,16	3,69	3,69	3,69
<i>EGC</i>	2,67	2,16	2,23	2,18	1,77	1,90
+C	0,16	0,14	0,20	0,75	0,66	0,74
<i>EC</i>	0,74	0,75	0,76	2,46	2,41	2,44
<i>EGCG</i>	8,68	7,43	7,37	6,05	5,18	5,23
<i>ECG</i>	2,11	1,82	1,75	6,29	5,44	5,39
Общее содержание катехинов	14,35	12,27	12,31	17,70	15,46	15,70

Т а б л и ц а Е.2 — Сравнение средних значений, полученных в межлабораторных испытаниях черного листового чая

Компонент	Черный листовый чай 3			Черный листовый чай 4		
	Стандартный образец катехина		Стандартный образец кофеина совместно с <i>RRF</i>	Стандартный образец катехина		Стандартный образец кофеина совместно с <i>RRF</i>
	На основе сухого вещества в пробе, %	На основе безводного стандартного образца и сухого вещества в пробе, %	На основе безводного стандартного образца и сухого вещества в пробе, %	На основе сухого вещества в пробе, %	На основе безводного стандартного образца и сухого вещества в пробе, %	На основе безводного стандартного образца и сухого вещества в пробе, %
Галловая кислота	0,16	0,16	0,17	0,22	0,22	0,21
Кофеин	4,24	4,24	4,30	4,01	4,01	4,01
<i>EGC</i>	1,31	1,06	1,05	0,75	0,75	0,58
+C	0,20	0,18	0,22	0,16	0,16	0,16
<i>EC</i>	0,42	0,42	0,43	0,48	0,48	0,45
<i>EGCG</i>	6,76	5,79	5,78	4,78	4,78	4,08
<i>ECG</i>	2,40	2,08	2,05	2,16	2,16	1,87
Общее содержание катехинов	11,00	9,53	9,53	8,27	8,27	7,15

**Приложение ДА**  
**(справочное)**

**Сведения о соответствии межгосударственных стандартов  
ссылочным международным стандартам**

Т а б л и ц а ДА.1

Обозначение и наименование международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 1572 Чай. Приготовление измельченной пробы с известным содержанием сухих веществ	IDT	ГОСТ ISO 1572—2013 Чай. Метод приготовления измельченной пробы и определения содержания сухого вещества
ISO 3696 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний	IDT	ГОСТ ISO 3696—2013* Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний
ISO 7513 Чай быстрорастворимый в твердой форме. Определение содержания влаги (потеря массы при 103 град. С)	IDT	ГОСТ ISO 7513—2012 Чай растворимый. Метод определения массовой доли влаги (потеря массы при 103 °С)
<p>П р и м е ч а н и е — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:</p> <p>- IDT — идентичные стандарты.</p>		

\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501—2005 «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

**Библиография**

- [1] ISO 1839:1980, Tea — Sampling
- [2] ISO 7516:1984, Instant tea in solid form — Sampling
- [3] ISO/TC 34/SC8 — Tea, N513, Report from the project leader of the ISO ring test on ISO/CD 14502-2 (Tea — Methods for determination of substances characteristic of green and black tea — Part 2: Determination of catechins in green tea — Method using high performance liquid chromatography)

Ключевые слова: чай, содержание катехинов

Редактор *О.А. Стояновская*  
Технический редактор *В.Ю. Фотиева*  
Корректор *Л.С. Лысенко*  
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 08.02.2016. Подписано в печать 24.02.2016. Формат 60×84  $\frac{1}{8}$ . Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,17. Тираж 40 экз. Зак. 646.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)