



Аналитические возможности жидкостного хроматографа МаэстроВЭЖХ с детектором на диодной матрице на примере определения кофеина в чае в соответствии с ГОСТ ISO 10727-2013 «Чай и чай растворимый. Определение содержания кофеина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии»

Яшин А. Я. к. х. н., ведущий инженер отдела исследований и разработок, ООО Интерлаб, Россия, Москва

Ключевые слова

Жидкостная хроматография, кофеин, чай, чай растворимый, детектор на диодной матрице

Резюме

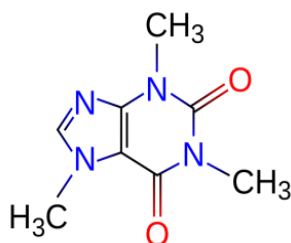
Показаны аналитические возможности МаэстроВЭЖХ на примере определения кофеина. Рассчитаны СКО по высотам и площадям определяемого компонента. Определено содержание кофеина в некоторых образцах чая.

Введение

Кофеин представляет собой разновидность метилксантиновых соединений и является одним из наиболее часто потребляемых биологически активных веществ в мире, содержащихся в более чем 60 растительных продуктах, но в достаточном количестве находится только в листьях чая и зернах кофе. Самым потребляемым кофеинсодержащим продуктом является чай (потребляет более 95% взрослого населения). Содержание кофеина в чае во многом зависит от места произрастания конкретного сорта чая: от климата местности, от особенностей почвы и от высоты над уровнем моря. Еще один немаловажный фактор, влияющий на содержание кофеина, — это степень ферментации чайного листа. Обычно чем она ниже, тем больше кофеина содержится в чае.

Кофеин - биологически активное соединение, способное оказывать (в зависимости от дозы) либо тонизирующее действие на организм человека, либо негативное влияние на здоровье. Кофеин, содержащийся в пищевых продуктах, напитках и лекарствах, должен рассматриваться как источник рисков, которые подлежат оценке и учёту, а также нормативно-техническому регулированию. Подавляющее большинство неблагоприятных эффектов кофеина не проявляется при его постоянном потреблении в дозе порядка 150-400 мг/сут. Потребление кофеина в дозе выше 400 мг/сут. нежелательно, т.к. может в ряде случаев негативно воздействовать на организм человека, его сердечно - сосудистую, мочеполовую, нервную системы, желудочно-кишечный тракт. В соответствии же с методическими рекомендациями МР 2.3.1.1915-04 «Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ» в РФ установлен адекватный уровень потребления кофеина, составляющий 50 мг в сутки и верхний допустимый уровень 150 мг в сутки.

Кофеин



Экспериментальная часть

Для анализа использовали чистые вещества фирмы Fluka:

Кофеин (стандарт, не менее 99%);

Ацетонитрил для ВЭЖХ;

Инструменты:

Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с детектором на диодной матрице

Колонка Phenomenex Luna C18(2) 5 мкм 150 x 4.6 мм

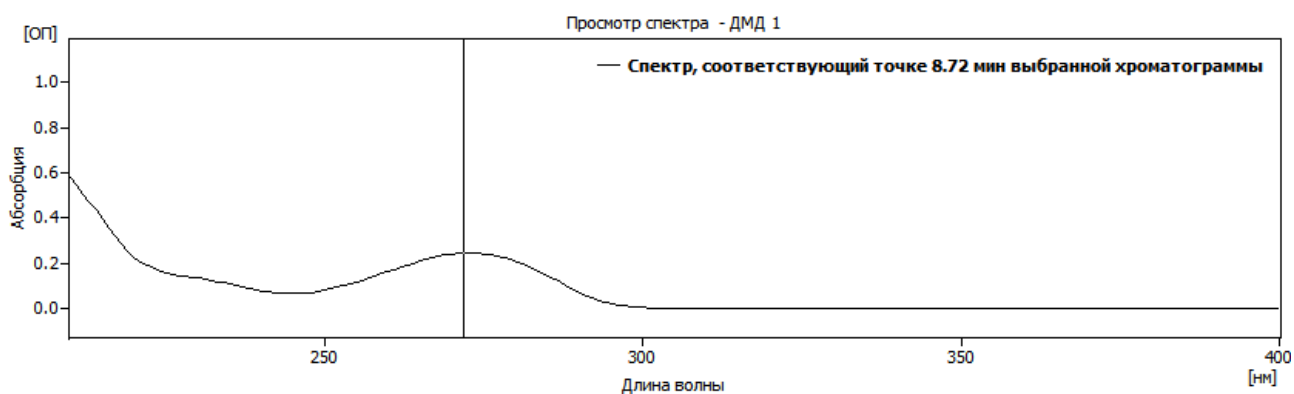
Подвижная фаза: А – ацетонитрил, В – 2,2 мМ НЗРО₄, 10:90 (А:В).

Скорость потока 1 мл/мин

Длина волны 272 нм

Результаты и обсуждения

С использованием детектора на диодной матрице был снят спектр кофеина для выбора оптимальной длины волны



Для определения кофеина выбрана длина волны 272 нм. При длине ниже 220 нм чувствительность к кофеину выше, однако при этой длине волны будут определяться другие примеси, присутствующие в чае, что может помешать определению основного компонента.

Типичная хроматограмма стандарта кофеина с использованием детектора на диодной матрице

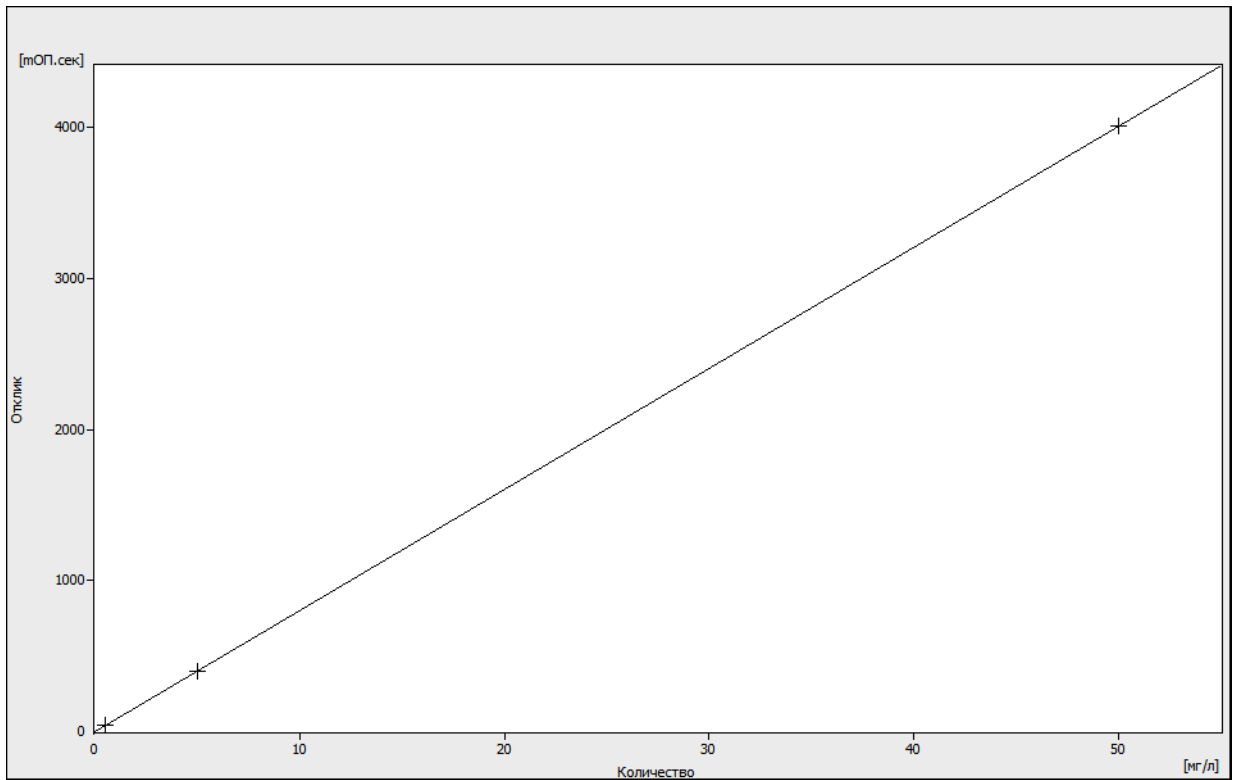


Таблица параметров для проверки стабильности системы (для компонента – кофеин), детектор на диодной матрице

Хроматограмма	Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]
Среднее значение	8.813	394.258	29.8
СКО %	0.39	0.18	0.24
1	8.873	393.573	29.717
2	8.847	394.668	29.788
3	8.827	393.939	29.771
4	8.827	395.683	29.787
5	8.827	394.811	29.797
6	8.813	394.343	29.769
7	8.793	393.696	29.716
8	8.78	394.41	29.859
9	8.773	394.169	29.842
10	8.767	393.289	29.954

Для определения кофеина в чае построен градуировочный график
Детектор на диодной матрице

Отклик	Количество
39.49	0.5
400.85	5.0
4008.42	50.0

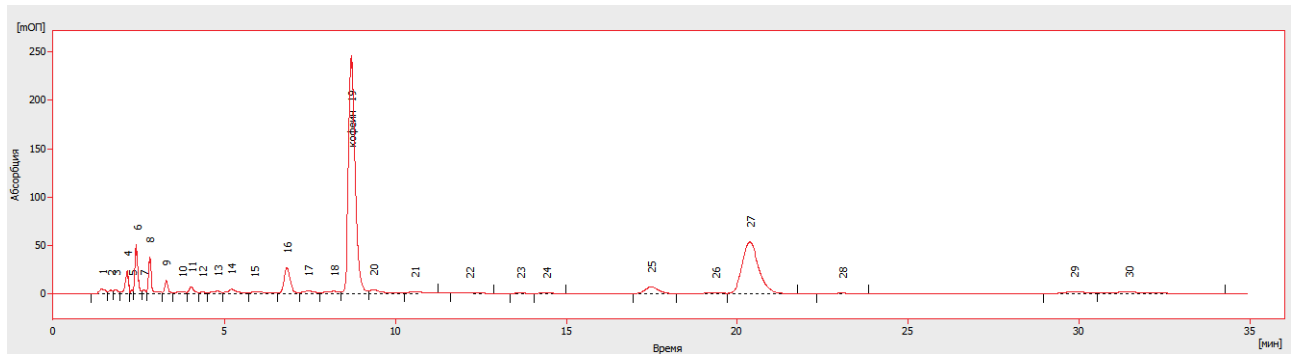


Уравнение градуировочного графика $Y = 80.17541 * X - 0.3213$

Коэфф. корреляции 0.9999999

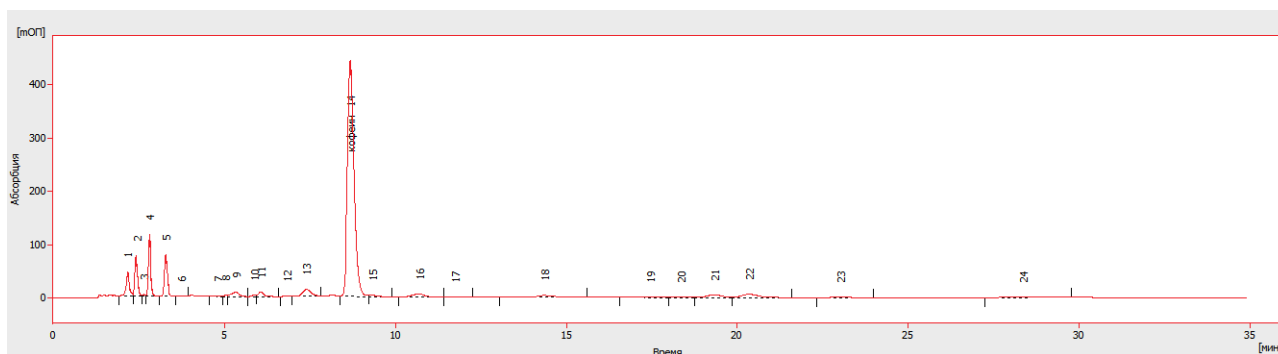
Расчетный предел детектирования (ПД) по кофеину составил $7,1 \cdot 10^{-10}$ г/мл

Хроматограмма зеленого пакетированного чая. Пробоподготовка проводилась согласно ГОСТ ISO 10727-2013 «Чай и чай растворимый. Определение содержания кофеина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии».



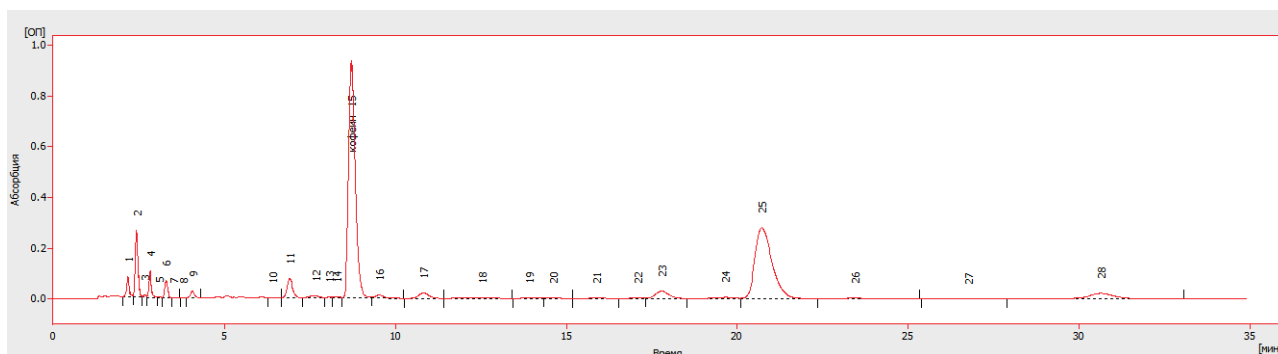
	Время [мин]	уд.	Площадь [мОП.сек]	Высота [мОП]	Количество [мг/л]	Название вещества
19	8.727		3265.151	246.234	203.645	кофеин

Хроматограмма черного пакетированного чая. Пробоподготовка проводилась согласно ГОСТ ISO 10727-2013 «Чай и чай растворимый. Определение содержания кофеина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии».



	Время уд. [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
14	8.693	5794.523	442.798	361.385	кофеин

Хроматограмма порошкообразного растворимого зеленого чая. Пробоподготовка проводилась согласно ГОСТ ISO 10727-2013 «Чай и чай растворимый. Определение содержания кофеина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии».



	Время уд. [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
15	8.727	12410.529	937.602	773.98	кофеин

Содержание кофеина в образцах чая рассчитывали по п.9 ГОСТ ISO 10727-2013 «Чай и чай растворимый. Определение содержания кофеина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии»:

Название	Содержание кофеина, массовая доля, %
Зеленый пакетированный чай	1,0
Черный пакетированный чай	1,8
Растворимый зеленый чай в виде порошка	3,9

Выводы

В большинстве полученных результатов СКО по площадям пиков составляет менее 0,5%.

Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с детектором на диодной матрице можно рекомендовать лабораториям Роспотребнадзора и другим контролирующим организациям для определения кофеина в чае, чае растворимом.



ТЕЛ.МОБ.: +375 (29) 132-55-65
ТЕЛ./ФАКС: +375 (17) 360-55-65

АДРЕС: 220068, г. Минск, ул. Гая, д.6
MAIL: felonby@mail.ru
WEB: www.felon.by