
Сыры, сырны́е корки и плавле́ные сыры. Определе́ние содержа́ния натами́цина.

Часть 2. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для сыров, сырных корок и плавленых сыров

Cheese, cheese rind and processed cheese — Determination of natamycin content —

Part 2:

High-performance liquid chromatographic method for cheese, cheese rind and processed cheese

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso-9233-2-2007/idf-140-2-2007>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R (Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочные номера
ISO 9233-2:2007(R)
IDF 140-2:2007(R)

© ISO and IDF 2007

Отказ от ответственности при работе в PDF

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или смотреть на экране, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на установку интегрированных шрифтов в компьютере, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe — торговый знак Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General Info файла; параметры создания PDF оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами – членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просим информировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 9233-2:2007

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8a78c1f-4d4c-453b-bc7b-1c7a2704498a/iso-9233-2-2007>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO и IDF 2007

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO по адресу ниже или членом ISO в стране регистрации пребывания.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

International Dairy Federation
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Brussels
Tel. + 32 2 733 98 88
Fax + 32 2 733 04 13
E-mail info@fil-idf.org
Web www.fil-idf.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
Предисловие	v
1 Область применения	1
2 Термины и определения	1
3 Принцип	1
4 Реактивы	2
5 Аппаратура	2
6 Отбор проб	3
7 Приготовление пробы для испытания	3
7.1 Сырная корка	3
7.2 Внутренняя часть сыра и плавленый сыр	4
8 Методика	4
8.1 Проба для анализа	4
8.2 Приготовление испытуемого раствора	4
8.3 Определение	5
9 Расчет и выражение результатов	6
9.1 Расчет массовой доли натамицина	6
9.2 Расчет массы натамицина на единицу площади поверхности	7
9.3 Поправка, вводимая в результат	7
9.4 Выражение результатов	7
10 Прецизионность	8
10.1 Межлабораторные испытания	8
10.2 Повторяемость	8
10.3 Воспроизводимость	8
11 Протокол испытания	8
Приложение А (информативное) Примеры	9
Приложение В (информативное) Результаты межлабораторного испытания	11
Библиография	12

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член ISO, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные организации, правительственные и неправительственные, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. ISO непосредственно сотрудничает с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам электротехнической стандартизации.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, приведенными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов состоит в подготовке международных стандартов. Проекты международных стандартов, одобренные техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы настоящего документа могут быть объектом патентных прав. ISO не должен нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 9233-2|IDF 140-2 подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*, и Международной федерацией молочной промышленности (IDF). Этот стандарт должен быть опубликован совместно ISO и IDF.

Настоящее первое издание ISO 9233-2|IDF 140-2 вместе с ISO 9233-1|IDF 140-1 отменяет и заменяет первое издание ISO 9233:1991, которое было подвергнуто техническому пересмотру.

ISO 9233|IDF 140 состоит из следующих частей под общим заголовком *Сыры, сырные корки и плавленые сыры. Определение содержания натамицина*:

- *Часть 1. Спектрометрический метод молекулярной абсорбции для сырных корок*
- *Часть 2. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для сыров, сырных корок и плавленых сыров*

Предисловие

Международная федерация молочной промышленности (IDF) является всемирной федерацией предприятий молочной отрасли, каждый член которой представлен в ней своим национальным комитетом. Каждый национальный комитет имеет право быть представленным в Постоянных комитетах IDF, осуществляющих техническую работу. IDF сотрудничает с ISO по вопросам разработки стандартных методов анализа и отбора проб молока и молочных продуктов.

Проекты международных стандартов, принятые Рабочими группами и Постоянными комитетами, рассылаются национальным комитетам для голосования. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения не менее 50 % национальных комитетов IDF, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы настоящего документа могут быть объектом патентных прав. IDF не должен нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 9233-2|IDF 140-2 подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*, и Международной федерацией молочной промышленности (IDF). Этот стандарт должен быть опубликован совместно ISO и IDF.

Вся работа была проведена под руководством совместной ISO-IDF Рабочей группы по *Отдельным пищевым добавкам и витаминам*, Постоянного комитета по *Аналитическим методам определения содержания добавок и загрязняющих примесей* под руководством руководителя проекта м-ра М. Карла (Германия).

ISO 9233-2:2007

Настоящее первое издание ISO 9233-2|IDF 140-2 вместе с ISO 9233-1|IDF 140-1 отменяет и заменяет первое издание IDF 140A:1992, которое было подвергнуто техническому пересмотру.

ISO 9233|IDF 140 состоит из следующих частей под общим заголовком *Сыры, сырники корки и плавленые сыры. Определение содержания натамицина*:

- *Часть 1. Спектрометрический метод молекулярной абсорбции для сырных корок*
- *Часть 2. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для сыров, сырных корок и плавленых сыров*

Сыры, сырныe корки и плавленые сыры. Определение содержания натамицина.

Часть 2.

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для сыров, сырных корок и плавленых сыров

1 Область применения

Настоящая часть ISO 9233|IDF 140 устанавливает метод определения массовой доли натамицина свыше 0,5 мг/кг в сырах, сырных корках и плавленых сырах и массы натамицина на единицу площади поверхности свыше 0,03 мг/дм² в сырных корках.

2 Термины и определения

Применительно к настоящему документу применяются следующие термины и определения.

2.1

содержание натамицина natamycin content

массовая доля веществ, определенных в соответствии с методикой, установленной в данной части ISO 9233|IDF 140

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание натамицина выражают в миллиграммах на килограмм.

2.2

масса натамицина на единицу площади поверхности в сырной корке surface-area-related natamycin mass in cheese rind

масса на единицу площади поверхности веществ, определенных в соответствии с методикой, установленной в данной части ISO 9233|IDF 140

ПРИМЕЧАНИЕ Массу натамицина на единицу площади поверхности выражают в миллиграммах натамицина на квадратный дециметр сырной корки.

2.3

сырная корка cheese rind

наружный слой сыра толщиной 5 мм, за исключением слоя покрытия, если оно присутствует

3 Принцип

Экстрагируют метанолом известное количество пробы. Разбавляют экстракт водой с последующим охлаждением до температуры от -15 °С до -20 °С для осаждения большей части жира, а затем фильтруют. Определяют в фильтрате (при необходимости после концентрирования) содержание натамицина или массу натамицина на единицу площади поверхности с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC).

4 Реактивы

Используют только реактивы признанного аналитического качества, если не оговорено иначе, а также только дистиллированную или деминерализованную воду или воду эквивалентной чистоты.

4.1 Метанол (CH_3OH).

4.2 Метанол, водный раствор.

Смешивают 2 объема метанола (4.1) и 1 объем воды.

4.3 Стандартные растворы натамицина.

4.3.1 Стандартный основной раствор натамицина, концентрацией 500 мг/л.

Непосредственно перед использованием растворяют в метаноле (4.1) количество препарата с известным содержанием натамицина, соответствующее 50 мг чистого натамицина ($\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{NO}_{13}$), в мерной колбе с одной меткой вместимостью 100 мл (5.1). Доводят до метки водой и перемешивают.

4.3.2 Стандартный рабочий раствор натамицина, концентрацией 5 мг/л.

Отбирают пипеткой 5,0 мл стандартного основного раствора натамицина (4.3.1) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 50 мл (5.1). Разбавляют до метки водным раствором метанола (4.2) и перемешивают.

Отбирают пипеткой 5,0 мл разбавленного таким образом раствора в другую мерную колбу с одной меткой вместимостью 50 мл (5.1). Разбавляют до метки водным раствором метанола (4.2) и перемешивают. Концентрация этого стандартного рабочего раствора натамицина составляет 5 мкг/мл.

Эта концентрация должна быть близкой к концентрации испытуемого раствора, измеренной в 8.3.3. При необходимости регулируют концентрацию этого стандартного рабочего раствора путем отбора пипеткой и разбавления другого количества основного раствора.

4.4 Уксусная кислота ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$), ледяная.

5 Аппаратура

Обычное лабораторное оборудование и, в частности, следующее.

5.1 Мерные колбы с одной меткой, вместимостью 50 мл и 100 мл.

5.2 Ломтерезка или **аналогичное устройство**, способное нарезать ломтики сыра толщиной 5 мм и шириной примерно 30 мм (пример показан на Рисунке А.1).

5.3 Ломтерезка для тонкой нарезки, способная нарезать тонкие ломтики сыра максимальной толщиной 1 мм (пример показан на Рисунке А.2).

5.4 Измельчитель или **смеситель**.

5.5 Острый нож, способный разрезать ломтики сыра на небольшие кусочки.

5.6 Магнитная мешалка или **аппарат для встряхивания**.

5.7 Конические колбы, вместимостью 100 мл и 200 мл, изготовленные из цветного стекла и снабженные притертыми стеклянными пробками.

5.8 Шприцы, одноразовые, вместимостью 10 мл.

5.9 Мембранные микрофильтры, с размером пор от 0,20 мкм до 0,45 мкм, стойкие к воздействию спиртовых растворов.

5.10 Складчатые бумажные фильтры, быстрофильтрующие, диаметром 150 мм [например, S и S, No. 595 1/2¹⁾].

5.11 Воронка, диаметром приблизительно 70 мм.

5.12 Морозильная камера, способная замораживать при температуре от –15 °С до –20 °С.

5.13 Экстракционные гильзы, для концентрирования, при необходимости, отфильтрованного экстракта [например, Sep-pack C18¹⁾ или Waters No. 51910¹⁾].

5.14 Жидкостной хроматограф, с УФ-детектором, способный проводить измерения при длине волны 303 нм и оборудованный регистрирующим устройством и/или интегратором.

5.15 Аналитическая колонка, длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, типа C8, с размером частиц 5 мкм [например, Lichrosorb RP8¹⁾].

5.16 Защитная колонка, длиной 100 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, типа C8, с размером частиц от 30 мкм до 40 мкм [например, Perisorb RP8¹⁾].

5.17 Банка для хранения пробы, подходящей вместимости.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

6 Отбор проб

В лабораторию следует поставлять представительную пробу. Ее не следует подвергать порче или изменению во время транспортировки или хранения.

Отбор проб не рассматривается в методе, установленном в данной части ISO 9233|IDF 140. Рекомендуемый метод отбора проб приводится в ISO 707|IDF 50.

Лабораторная проба должна составлять целую головку сыра или ее сегмент, представляющий целую головку.

7 Приготовление пробы для испытания

7.1 Сырная корка

При необходимости разрезают пробу для испытания на сектора или более мелкие части так, чтобы ширина сырной корки была не более 30 мм. С помощью ломтерезки (5.2) отделяют всю корку от всех полученных секторов или частей, нарезая ломтиками максимальной толщиной 5 мм.

Из полученной корки вырезают с помощью острого ножа (5.5) прямоугольный кусок площадью от 2 дм² до 4 дм². Определяют площадь его поверхности, в квадратных дециметрах, и массу, в килограммах.

Тщательно измельчают (5.4) всю корку, включая взвешенный и измеренный кусок, и хорошо перемешивают. Сразу же переносят приготовленную таким образом пробу в банку для хранения пробы (5.17).

1) Пример подходящего продукта, имеющегося в продаже. Эта информация дается для удобства пользователей данной части ISO 9233|IDF 140 и не означает одобрения этого продукта со стороны ISO или IDF.

После приготовления каждой пробы для испытания очищают все инструменты, которые находились в контакте с пробой, горячей водой, а затем метанолом (4.1). Тщательно сушат весь инструмент, например, струей сжатого воздуха.

7.2 Внутренняя часть сыра и плавленый сыр

После удаления корки (7.1) используют ломтерезку для тонкой нарезки (5.3) для получения ломтика максимальной толщиной 1 мм со всего наружного среза пробы для испытания.

Нарезают все ломтики пробы на мелкие куски площадью приблизительно 50 мм² и хорошо перемешивают. Сразу же переносят приготовленную таким образом пробу в банку для хранения пробы (5.17).

После приготовления каждой пробы для испытания очищают все инструменты, которые находились в контакте с пробой для испытания, горячей водой, а затем метанолом (4.1). Тщательно сушат весь инструмент, например, струей сжатого воздуха.

8 Методика

8.1 Проба для анализа

8.1.1 Сырная корка

Взвешивают с точностью до 10 мг приблизительно 10,00 г пробы для испытания (7.1) в коническую колбу вместимостью 200 мл (5.7).

8.1.2 Внутренняя часть сыра и плавленый сыр

Взвешивают с точностью до 10 мг приблизительно 5,00 г пробы для испытания (7.2) в коническую колбу вместимостью 100 мл (5.7).

8.2 Приготовление испытуемого раствора

8.2.1 Сырная корка

8.2.1.1 Первоначальные стадии

Добавляют 100 мл метанола (4.1) к пробе для анализа в конической колбе (8.1.1). Перемешивают содержимое конической колбы в течение 90 мин на магнитной мешалке (5.6) или встряхивают в течение 90 мин в аппарате для встряхивания (5.6).

Добавляют 50 мл воды. Сразу же переносят коническую колбу в морозильную камеру (5.12) приблизительно на 60 мин.

8.2.1.2 Фильтрация

Фильтруют холодный экстракт через складчатый бумажный фильтр (5.10), отбрасывая первые 5 мл фильтрата. Фильтрация следует проводить, пока суспензия остается еще холодной, чтобы избежать растворения жира и, следовательно, образования мутных фильтратов.

Доводят фильтрат до комнатной температуры. С помощью шприца (5.8) отбирают порцию фильтрата. Фильтруют через мембранный микрофильтр с размером пор 0,45 мкм (5.9), а затем через мембранный микрофильтр с размером пор 0,20 мкм (5.9).

Минимальное требуемое количество испытуемого раствора (фильтрата) составляет 20 мкл на ввод для прямого хроматографического измерения (8.3.4) и 25 мл или 50 мл для измерения при 5- или 10 -кратной концентрации (8.3.5) соответственно.

8.2.2 Внутренняя часть сыра и плавленый сыр

8.2.2.1 Первоначальные стадии

С помощью измерительного цилиндра добавляют 50 мл метанола (4.1) к пробе для анализа в конической колбе (8.1.2). Перемешивают содержимое конической колбы в течение 90 мин на магнитной мешалке (5.6) или встряхивают в течение 90 мин в аппарате для встряхивания (5.6).

С помощью измерительного цилиндра добавляют 25 мл воды. Сразу же переносят коническую колбу в морозильную камеру (5.12) приблизительно на 60 мин.

8.2.2.2 Фильтрация

Фильтруют раствор, как описано в 8.2.1.2.

8.3 Определение

8.3.1 Определение и пределы обнаружения

Лаборатория, которая применяет данный метод, должна установить пределы обнаружения и провести определение в собственных инструментальных условиях, используя признанные методы расчета, для верификации того, что натамицин может быть определен при концентрациях вплоть до 0,5 мг/кг и 0,03 мг/дм².

8.3.2 Настройка жидкостного хроматографа (5.14)

Рекомендуется следующий хроматографический режим:

Подвижная фаза:	Метанол (4.1): вода: уксусная кислота (4.4) — 12:8:1 (объемных частей)
Поток:	1 мл/мин
Установка детектора:	303 нм, 0,005 оптических единиц, вся шкала
Регистрирующее устройство:	10 мВ
Число теоретических (типичных) тарелок:	1 500 минимум

При использовании другой колонки, отличной от приведенной в качестве примера (5.15), регулируют соотношение метанол:вода. Однако, заданное относительное количество уксусной кислоты (4.4) к метанолу является существенным для сохранения максимальной оптической плотности при 303 нм.

Для определения времени удерживания и проверки калибровочного графика (8.3.3) перед испытанием каждой серии проб в хроматограф должен вводиться стандарт с известным содержанием натамицина.

Поскольку натамицин не устойчив в водном метаноле, выполняют измерение как можно быстрее.

8.3.3 Калибровочный график

Отбирают пипеткой 1 мл, 2 мл, 4 мл, 6 мл и 8 мл стандартного рабочего раствора натамицина (4.3.2) соответственно в серию мерных колб с одной меткой вместимостью 50 мл (5.1). Доводят до метки водным метанолом (4.2) и перемешивают.