

Первое издание
2008-01-15

Исправленная версия
2008-04-15

**Продукты плодовоовощные.
Определение концентраций бензойной
и сорбиновой кислот. Метод
высокоэффективной жидкостной
хроматографии**

*Fruit and vegetable products — Determination of benzoic acid and
sorbic acid concentration — High performance liquid chromatography
method*
(standards.iteh.ai)

ISO 22855:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/210d7d25-c2bd-4711-a345-584b0c710059/iso-22855-2008>

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



Ссылочный номер
ISO 22855:2008(R)

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 22855:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/210d7d25-c2bd-4711-a345-584b0c710059/iso-22855-2008>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2008

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

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
1 Область применения	1
2 Принцип	1
3 Реактивы и материалы.....	1
4 Аппаратура.....	2
5 Проба.....	2
6 Методика	2
7 Расчет	4
8 Прецизионность.....	4
9 Протокол испытания.....	6
Приложение А (информативное) Хроматограмма	7
Приложение В (информативное) Статистические результаты межлабораторного испытания.....	8
Библиография.....	10

(standards.iteh.ai)

ISO 22855:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/210d7d25-c2bd-4711-a345-584b0c710059/iso-22855-2008>

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 22855 разработан Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 3, *Плодоовощные продукты*.

Настоящая исправленная версия ISO 22855:2008 включает следующие поправки:

- В 3.5 and 3.6 были изменены концентрации основных растворов со 100 мг/мл на 1 г/л, и тексты были сформулированы по другому.
- Был удален дефис между словами высокая и эффективная в словосочетании “высокоэффективная жидкостная хроматография”.

Продукты плодовоовощные. Определение концентраций бензойной и сорбиновой кислот. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения концентраций бензойной и сорбиновой кислот в плодово-ягодных и овощных соках.

ПРИМЕЧАНИЕ Этот метод основан на IFU method 63 [2].

2 Принцип

Экстрагируют бензойную и/или сорбиновую кислоты из пробы для анализа смесью буферного раствора ацетата аммония и метанола в кислых условиях.

Концентрацию бензойной и/или сорбиновой кислот определяют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC), используя обращенно-фазовую колонку и УФ-детектор.

3 Реактивы и материалы

Если не оговорено иначе, используют только реактивы признанной аналитической чистоты и воду степени чистоты HPLC.

3.1 Уксусная кислота (CH_3COOH), ледяная.

3.2 Метанол (CH_3OH), для HPLC.

3.3 Ацетат аммония ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$), раствор концентрацией 0,01 моль/л.

Растворяют 0,771 г ацетата аммония в 1 л воды.

3.4 Ацетат аммония/уксусная кислота ($\text{CH}_3\text{COONH}_4/\text{CH}_3\text{COOH}$), буферный раствор.

Смешивают 1 000 объемных частей раствора ацетата аммония (3.3) и 1,2 объемные части уксусной кислоты (3.1).

3.5 Бензойная кислота ($\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$), основной раствор.

Растворяют 100 мг бензойной кислоты в 40 мл метанола (3.2) и доводят до метки водой в мерной колбе вместимостью 100 мл для получения основного раствора концентрацией, $\rho(\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}) = 1$ г/л.

3.6 Сорбиновая кислота [$\text{CH}_3(\text{CH}:\text{CH})_2\text{COOH}$], основной раствор.

Растворяют 100 мг сорбиновой кислоты в 40 мл метанола (3.2) и доводят до метки водой в мерной колбе вместимостью 100 мл для получения основного раствора концентрацией, $\rho[\text{CH}_3(\text{CH}:\text{CH})_2\text{COOH}] = 1$ г/л.

3.7 Гексацианоферроат калия (II), тригидрат, $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$.

3.8 Сульфат цинка, гептагидрат, $(ZnSO_4 \cdot 7H_2O)$, раствор концентрацией 300 г/л.

3.9 Экстрагирующий раствор

Смешивают 60 объемных частей буферного раствора ацетата аммония/уксусной кислоты (3.4) с 40 объемными частями метанола (3.2).

3.10 Элюент для HPLC

Смешивают 50 объемных частей раствора ацетата аммония (3.4) с 40 объемными частями метанола для HPLC (3.2) и доводят значение pH до 4,5–4,6 уксусной кислотой (3.1). Фильтруют элюент через мембранный фильтр (4.2).

3.11 Раствор Карреза I

Растворяют 150 г гексацианоферроата (II) (3.7) в воде в мерной колбе вместимостью 1 000 мл. Разбавляют до метки водой и перемешивают раствор.

3.12 Раствор Карреза II

Растворяют 300 г сульфата цинка (3.8) в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл. Разбавляют до метки водой и перемешивают раствор.

3.13 Гофрированная фильтровальная бумага, плотная.

4 Аппаратура

Обычная лабораторная аппаратура и, в частности, следующая.

4.1 Ультразвуковая баня.

4.2 Мембранные фильтры, с размером пор 0,45 мкм для водных растворов (например, ацетата целлюлозы); диаметр зависит от размера держателя фильтра.

4.3 Держатель фильтра, для мембранных фильтров с соответствующими отсосной склянкой и приемником.

4.4 Жидкостной высокоэффективный хроматограф, оборудованный УФ-детектором (с переменной длиной волны), регистрирующим устройством и/или интегратором либо компьютером с соответствующей интегрирующей программой.

4.5 Обращенно-фазовая разделительная колонка, например, обращенная фаза C8, 250 мм × 4,6 мм, размер частиц 5 мкм.

5 Проба

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

6 Методика

6.1 Приготовление испытуемого раствора

Тщательно гомогенизируют или перемешивают пробу.

Сгущенный сок следует разбавить до концентрации сока одинарной крепости.

6.1.1 Прозрачные пробы

Разбавляют от 5,00 мл до 10,00 мл (V_1) пробы приблизительно 75 мл экстрагирующего раствора (3.9) в мерной колбе вместимостью 100 мл. Помещают колбу в ультразвуковую баню (4.1) и перемешивают содержимое, по меньшей мере, в течение 10 мин, а затем разбавляют до метки экстрагирующим раствором (3.9) при 20 °С. Фильтруют раствор через мембранный фильтр (4.2).

6.1.2 Мутные пробы

Разбавляют от 5,00 мл до 10,00 мл (V_1) пробы приблизительно 75 мл экстрагирующего раствора (3.9) в мерной колбе вместимостью 100 мл. Помещают колбу в ультразвуковую баню (4.1), перемешивают содержимое, по меньшей мере, в течение 10 мин. Затем добавляют 1,0 мл раствора Карреза I (3.11) и 1,0 мл раствора Карреза II (3.12) для осветления. Тщательно перемешивают раствор после каждого добавления и разбавляют до метки экстрагирующим раствором (3.9) при 20 °С. Фильтруют раствор через бумажный фильтр (3.13); отбрасывают первые миллилитры фильтрата. Фильтруют прозрачный раствор через мембранный фильтр (4.2).

6.2 Построение калибровочных графиков

Разбавляют основной раствор бензойной кислоты (3.5) и/или основной раствор сорбиновой кислоты (3.6) экстрагирующим раствором (3.9) при 20 °С для получения стандартных растворов I, II и III с концентрациями бензойной и/или сорбиновой кислот 10 мг/л, 25 мг/л и 50 мг/л соответственно.

Вводят по 10 мкл каждого из калибровочных растворов в хроматограф (4.4) при следующих условиях:

- скорость потока: приблизительно 1,2 мл/мин;
- длина волны при УФ-обнаружении: 235 нм (0,08 AUFS – оптических единиц на всю шкалу).

Строят калибровочные графики, нанося площади пиков относительно концентраций бензойной и/или сорбиновой кислот, в миллиграммах на литр.

6.3 Определение

Вводят 10 мкл испытуемого раствора (6.1) в хроматограф, используя те же самые условия, что и для построения калибровочного графика.

Идентифицируют пики бензойной и/или сорбиновой кислот испытуемого раствора путем сравнения с пиками калибровочных растворов.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Для оптимального разделения бензойной и/или сорбиновой кислот может потребоваться незначительное изменение состава элюента.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 В условиях, описанных в данной методике, также можно определить метиловый, этиловый и пропиловый эфиры 4-оксибензойной кислоты (см. хроматограмму в Приложении А).

ПРИМЕЧАНИЕ 3 Пики основных анализируемых веществ могут вызвать интерференцию при анализе бензойной кислоты в апельсиновом соке. В таком случае необходима стадия соответствующей очистки.

ПРИМЕЧАНИЕ 4 Идентификацию бензойной и сорбиновой кислот выполняют путем сравнения с временем удерживания стандартных растворов. Можно идентифицировать анализируемые кислоты, используя и другие методы идентификации: ввод простых веществ, просмотр спектра поглощения при требуемых длинах волн и измерение поглощения при различных длинах волн.

ПРИМЕЧАНИЕ 5 Количественное определение выполняют по методу внешнего стандарта с интеграцией площади пика или измерением высот пиков. Необходимо проверять линейность калибровочной функции, например, с помощью стандартных растворов I, II и III.

7 Расчет

Определяют концентрацию бензойной и/или сорбиновой кислот в испытуемом растворе непосредственно по калибровочному графику (6.2). Рассчитывают концентрацию бензойной кислоты в пробе, ρ_A в миллиграммах на литр, используя следующую формулу (метод внешнего стандарта):

$$\rho_A = \frac{A_1 \cdot \rho_{st} \times 100}{A_2 \cdot V_1}$$

где

A_1 площадь или высота пика бензойной или сорбиновой кислот в испытуемом растворе, выраженная в единицах площади или длины, соответственно;

A_2 площадь или высота пика бензойной или сорбиновой кислот в испытуемом стандартном растворе, выраженная в единицах площади или длины, соответственно;

ρ_{st} концентрация стандартного раствора, в миллиграммах на литр;

V_1 объем испытуемого раствора пробы, в миллилитрах.

Выражают результат(ы), в миллиграммах на литр, с точностью до первого десятичного знака.

8 Прецизионность

Прецизионность метода была установлена с помощью межлабораторного испытания, организованного аналитической комиссией Международного союза по фруктам (IFU). В этом испытании были проанализированы пробы апельсинового и виноградного соков. Статистическая обработка была выполнена Институтом Max von Pettenkofer немецкого федерального министерства здравоохранения. См. статистические результаты этого испытания в Приложении В.

Статистические параметры выражены в соответствии с ISO 5725-2 [1].

8.1 Повторяемость

Бензойная кислота

Апельсиновый сок: $r = 3,5$ $s_r = 1,25$

Виноградный сок: $r = 3,5$ $s_r = 1,25$

Сорбиновая кислота

Апельсиновый сок: $r = 2,8$ $s_r = 1,00$

Виноградный сок: $r = 2,3$ $s_r = 0,88$

Метилвый эфир 4-оксибензойной кислоты

Апельсиновый сок: $r = 4,5$ $s_r = 1,60$

Виноградный сок: $r = 3,8$ $s_r = 1,37$

Этиловый эфир 4-оксибензойной кислоты

Апельсиновый сок: $r = 4,5$ $s_r = 1,59$

Виноградный сок: $r = 4,8$ $s_r = 1,70$

Пропиловый эфир 4-оксибензойной кислоты

Апельсиновый сок: $r = 5,3$ $s_r = 1,88$

Виноградный сок: $r = 5,4$ $s_r = 1,93$

где

r — предел повторяемости;

s_r — среднее квадратическое отклонение повторяемости.

8.2 Воспроизводимость**Бензойная кислота**

Апельсиновый сок: $R = 13,9$ $s_R = 4,96$

Виноградный сок: $R = 8,9$ $s_R = 3,18$

Сорбиновая кислота

Апельсиновый сок: $R = 11,0$ $s_R = 3,93$

Виноградный сок: $R = 7,3$ $s_R = 2,61$

Метилловый эфир 4-оксибензойной кислоты

Апельсиновый сок: $R = 19,0$ $s_R = 6,79$

Виноградный сок: $R = 11,7$ $s_R = 4,17$

Этиловый эфир 4-оксибензойной кислоты

Апельсиновый сок: $R = 9,8$ $s_R = 3,5$

Виноградный сок: $R = 8,8$ $s_R = 3,14$

Пропиловый эфир 4-оксибензойной кислоты

Апельсиновый сок: $R = 16,8$ $s_R = 6,00$

Виноградный сок: $R = 17,7$ $s_R = 6,32$

где

R — предел воспроизводимости;

s_R — среднее квадратическое отклонение воспроизводимости.

9 Протокол испытания

Протокол испытания должен содержать:

- a) всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;
- b) используемый метод отбора проб, если известен;
- c) используемый метод испытания со ссылкой на настоящий международный стандарт;
- d) все подробности, не указанные в настоящем международном стандарте, или рассматриваемые как необязательные, вместе с подробностями всех побочных обстоятельств, которые могут повлиять на результат(ы) испытания;
- e) полученный(ые) результат(ы) и, в случае проверки повторяемости, конечный полученный результат.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22855:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/210d7d25-c2bd-4711-a345-584b0c710059/iso-22855-2008>