МЕЖДУНАРОДНЫЙ СТАНДАРТ

# ISO 9231

# IDF 139

Первое издание
2008-07-15

# Молоко и молочные продукты. Определение содержания бензойной и сорбиновой кислот

*Milk and milk products — Determination of the benzoic and sorbic acid contents*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 9231:2008
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e2895551-c77e-487a-9ca8-1870590d2eb0/iso-9231-2008

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

Ссылочные номера
ISO 9231:2008(R)
IDF 139:2008(R)

© ISO и IDF 2008

**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 9231:2008
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e2895551-c77e-487a-9ca8-1870590d2eb0/iso-9231-2008

## ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO и IDF 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 членов 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 Нормативные ссылки** ..... 1

**3 Термины и определения** ..... 1

**4 Принцип** ..... 1

**5 Реактивы** ..... 1

**6 Аппаратура** ..... 3

**7 Отбор проб** ..... 3

**8 Приготовление пробы для испытания** ..... 4
**8.1 Йогурт и другие кисло-молочные продукты** ..... 4
**8.2 Другие молочные продукты** ..... 4

**9 Методика** ..... 4
**9.1 Осаждение жиров и белков и осветление** ..... 4
**9.2 Высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC)** ..... 4

**10 Расчет и выражение результатов** ..... 5
**10.1 Расчет** ..... 5
**10.2 Выражение результатов** ..... 5

**11 Прецизионность** ..... 5
**11.1 Межлабораторное испытание** ..... 5
**11.2 Повторяемость** ..... 6
**11.3 Воспроизводимость** ..... 6

**12 Протокол испытания** ..... 6

**Ппиложение А** (информативное) **Межлабораторные испытания** ..... 7

**Библиография** ..... 9

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 9231:2008
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e2b2b951-e7fe-4b7a-9eab-
fa4d94ee0ab/iso-9231-2008

## 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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 9231│IDF 139 разработан 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.

ISO 9231:2008
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e2895551-c77e-487a-9ca8-1870590d2eb0/iso-9231-2008


© ISO и IDF 2008 – Все права сохраняются

## Предисловие

**Международная федерация молочной промышленности (IDF)** является некоммерческой организацией, представляющей интересы предприятий молочной отрасли. Членами IDF являются национальные комитеты каждой страны-члена, а также региональные ассоциации молочной промышленности, которые имеют подписанное официальное соглашение о совместной деятельности с IDF. Все члены IDF имеют право быть представленными 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 9231 | IDF 139 подготовлен Международной федерацией молочной промышленности (IDF) и Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*. Этот стандарт должен быть опубликован совместно IDF и ISO.

Вся работа была проведена под руководством совместной ISO-IDF Рабочей группы по *Пищевым добавкам и витаминам,* Постоянного комитета по *Аналитическим методам анализа добавок и загрязнителей* под руководством руководителя проекта д-ра М. Карла (DE).

ISO 9231 | IDF 139:2008 отменяет и заменяет стандарт IDF 139:1987, который был подвергнут техническому пересмотру.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 9231:2008
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e28[illegible]487a-9ca8-1870590d2eb0/iso-9231-2008

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 9231:2008
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e2895551-c77e-487a-9ca8-1870590d2eb0/iso-9231-2008

# Молоко и молочные продукты. Определение содержания бензойной и сорбиновой кислот

## 1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод определения содержания бензойной и сорбиновой кислот в молоке и молочных продуктах.

Метод применим к молоку, сухому молоку йогурту и другим кисло-молочным продуктам, а также сыру и плавленому сыру и пригоден для измерения содержаний обоих соединений при концентрациях свыше 5 мг/кг.

## 2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные нормативные документы являются обязательными при применении данного документа. Для жестких ссылок применяется только цитированное издание документа. Для плавающих ссылок необходимо использовать самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 1042, *Посуда лабораторная стеклянная. Мерные колбы с одной меткой*

ISO 9231:2008
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e2895551-c77e-487a-9ca8-187/0590d2eb0/iso-9231-2008

## 3 Термины и определения

Применительно к настоящему документу используются следующие термины и определения.

**3.1**
**содержание бензойной и сорбиновой кислот**
**benzoic and sorbic acid contents**
массовые доли бензойной и сорбиновой кислот, определенных в соответствии с методикой, установленной в этом международном стандарте

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание бензойной и сорбиновой кислот выражают в миллиграммах на килограмм продукта.

## 4 Принцип

Удаляют жиры и белки из слабо щелочного раствора продукта путем осаждения по Каррезу. После разбавления результирующего раствора метанолом фильтруют всплывающую жидкость. Разделяют бензойную и сорбиновую кислоты с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) на обращено-фазовой колонке $C_{18}$, измеряя оптическую плотность при 227 нм и 250 нм.

## 5 Реактивы

Если не оговорено иначе, используют только реактивы признанной чистоты, а также дистиллированную или деминерализованную воду или воду эквивалентной чистоты.

**5.1 Метанол** ($CH_3OH$).

© ISO и IDF 2008 – Все права сохраняются

**5.2 Реактивы для осаждения**, как указано ниже:

**5.2.1 Раствор гексацианоферроата(II) калия**

Растворяют 10,6 г тригидрата гексацианоферроата(II) калия ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) в воде в мерной колбе с одной меткой вместимостью 100 мл (6.3). Разбавляют до метки водой и перемешивают.

ПРИМЕЧАНИЕ 100 мл раствора достаточно для 40 опытов.

**5.2.2 Раствор ацетата цинка**

Растворяют 21,9 г дигидрата ацетата цинка [$(CH_3COO)_2Zn.2H_2O$] и 32 мл уксусной кислоты ($CH_3COOH$) в воде в мерной колбе с одной меткой вместимостью 100 мл (6.3). Разбавляют до метки водой и перемешивают.

В том случае, если дигидрат ацетата цинка полностью не растворяется, нагревают при взбалтывании колбу вместимостью 100 мл с содержимым в водяной бане (6.2), отрегулированной на температуру 70 °C. После полного растворения дигидрата ацетата цинка охлаждают полученный таким образом раствор снова до комнатной температуры. Разбавляют до метки водой и опять перемешивают.

ПРИМЕЧАНИЕ 100 мл раствора достаточно для 40 опытов.

**5.3 Фосфатный буферный раствор**, pH 6,7.

Растворяют 2,5 г дигидроортофосфата калия ($KH_2PO_4$) и 2,5 г тригидрата гидроортофосфата калия ($K_2HPO_4.3H_2O$) в 1 л воды и перемешивают. Фильтруют полученный таким образом через систему фильтрации растворителя (6.8).

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

**5.4 Подвижная фаза**, для HPLC.

Смешивают 10 объемов метанола (5.1) и 90 объемов фосфатного буферного раствора (5.3). Удаляют любой растворенный газ с помощью небольшого вакуума.

iTeh Standards
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e2895551-c77e-487a-9ca8-1870590d2ab9/iso-9231-2008

**5.5 Раствор гидроксида натрия**, $c$(NaOH) = 0,1 моль/л.

Растворяют 4,0 г гранулированного гидроксида натрия в воде в мерной колбе с одной меткой вместимостью 1 000 мл (6.3). Разбавляют до метки водой и перемешивают.

**5.6 Серная кислота**, $c(H_2SO_4)$ = 0,5 моль/л.

Осторожно приливают 15 мл концентрированной серной кислоты с массовой долей, по меньшей мере, от 95 % до 98 % в 250 мл воды в мерной колбе с одной меткой вместимостью 500 мл (6.3) и оставляют для охлаждения. Разбавляют до метки водой и перемешивают.

**5.7 Стандартные растворы сорбиновой и бензойной кислот**, приготовленные следующим образом:

**5.7.1 Основной стандартный раствор**

Растворяют 50 мг сорбиновой кислоты и 50 мг бензойной кислоты в метаноле (5.1) в мерной колбе с одной меткой вместимостью 100 мл (6.3). Разбавляют до метки метанолом (5.1) и перемешивают.

Основной стандартный раствор устойчив, по меньшей мере, в течение трех недель при хранении в холодильнике при температуре от 4 °C до 7 °C.

**5.7.2 Рабочий стандартный раствор**

Смешивают 500 мл метанола (5.1) с 500 мл воды для получения водно-метанольного раствора с объемной долей 50 %.

 © ISO и IDF 2008 – Все права сохраняются

В день использования отбирают пипеткой 5 мл основного стандартного раствора (5.7.1) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 250 мл (6.3). Разбавляют 50 %-ным водно-метанольным раствором до метки и перемешивают. Результирующий рабочий стандартный раствор содержит по 10 мкг/мл обеих сорбиновой и бензойной кислот.

## 6 Аппаратура

Обычная лабораторная аппаратура и, в частности, следующая:

**6.1 Аналитические весы**, способные взвешивать с точностью до 1 мг, с возможностью считывания 0,1 мг.

**6.2 Водяная баня**, способная поддерживать температуру 70 °C ± 2 °C.

**6.3 Мерные колбы с одной меткой**, вместимостью 100 мл, 250 мл, 500 мл и 1 000 мл, соответствующие требованиям к классу A, как указано в ISO 1042.

**6.4 Жидкостной хроматограф**, оборудованный насосом, способным создавать давление до 4,37 МПа (6 000 фунтов на квадратный дюйм), дозатором, двухволновым или с диодной матрицей ультрафиолетовым детектором и регистрирующим устройством или интегратором.

Двухволновый детектор должен быть оснащен кюветой с длиной оптического пути 1 см и пригоден для измерения оптической плотности при длине волны 227 нм (для бензойной кислоты) и 250 нм (для сорбиновой кислоты).

iTeh STANDARD PREVIEW

**6.5 Колонка HPLC**, изготовленная из нержавеющей стали, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4 мм, заполненная обращенно-фазовым адсорбентом из диоксида кремния, обработанным октадецильными (ODC) группами, т.е. Micro-Bondapak $C_{18}$[1)] или аналогичным адсорбентом.

(standards.iteh.ai)

**6.6 Шприц для HPLC**.

ISO 9231:2008
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e2895551-c77e-487a-9ca8-

**6.7 Комплект приборов для осветления пробы**, для мембранной фильтрации экстрактов пробы, с фильтрами с размером пор 0,45 мкм для водных растворов.

**6.8 Система фильтрования растворителей**, для мембранной фильтрации растворителей, с фильтрами с размером пор 0,45 мкм для водных растворов.

**6.9 Ультразвуковая баня**.

**6.10 pH-метр**.

## 7 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 данном международном стандарте. Рекомендуемый метод отбора проб приводится в ISO 707 | IDF 50 [1].

Хранят пробу для испытания таким образом, чтобы предотвратить ее порчу или изменение состава.

---

1) Micro-Bondapak $C_{18}$® является примером подходящего продукта, имеющегося в продаже. Эта информация дается для удобства пользователей данного международного стандарта и не означает одобрения этого оборудования со стороны ISO или IDF.

© ISO и IDF 2008 – Все права сохраняются

## 8 Приготовление пробы для испытания

### 8.1 Йогурт и другие кисло-молочные продукты

Перед началом методики гомогенизируют пробу путем ее осторожного нагревания при температуре 40 °C при перемешивании. Взвешивают с точностью до 0,1 г 20 г гомогенизированной пробы в мерной колбе с одной меткой вместимостью 100 мл (6.3).

### 8.2 Другие молочные продукты

Взвешивают с точностью до 0,1 г 3 г пробы в стеклянном химическом стакане вместимостью 20 мл. Полностью диспергируют пробу для испытания в 10 мл воды, добавляемой небольшими порциями при перемешивании стеклянной палочкой.

Количественно переносят раствор в мерную колбу с одной меткой вместимостью 100 мл (6.3), дважды споласкивая стакан водой порциями по 5 мл.

## 9 Методика

### 9.1 Осаждение жиров и белков и осветление

Добавляют 25 мл раствора гидроксида натрия (5.5) к пробе для испытания (см. 8.1 или 8.2) и перемешивают. Помещают колбу с содержимым либо в ультразвуковую баню (6.9) на 15 мин, либо в водяную баню (6.2), отрегулированную на температуру 70 °C, и нагревают в течение 15 мин, а затем дают возможность раствору охлаждаться до комнатной температуры.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Регулируют pH до 8 ± 1, добавляя раствор серной кислоты (5.6) при перемешивании. Затем добавляют 2 мл раствора гексацианоферроата(II) калия (5.2.1) и 2 мл раствора ацетата цинка (5.2.2) для осаждения жиров и белков. Энергично встряхивают и дают возможность полученной таким образом суспензии отстояться в течение 15 мин. Затем добавляют приблизительно 40 мл метанола (5.1) и перемешивают. Охлаждают до комнатной температуры.

ISO 9231:2008
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/7f7f0b1d-7f7f-4b1f-bb1f-7f7f0b1d7f7f/iso-9231-2008

Разбавляют метанолом (5.1) до метки и снова перемешивают. Дают возможность смеси отстояться еще в течение 15 мин. Фильтруют надосадочную жидкость, используя комплект приборов для осветления пробы (6.7).

### 9.2 Высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC)

Проводят анализ с помощью HPLC при комнатной температуре, используя подвижную фазу (5.4) при скорости потока приблизительно 1,2 мл/мин. Дают системе возможность прийти в равновесие в течение, по меньшей мере, 30 мин до ввода любых растворов.

Затем вводят от 5 мкл до 20 мкл осветленного раствора, приготовленного в 9.1, и равный объем рабочего стандартного раствора (5.7.2). Контролируют вытекающий из колонки поток путем УФ-обнаружения при длинах волн 227 нм и 250 нм, используя последовательное обнаружение при установке на две длины волны или одновременное двухволновое обнаружение.

ПРИМЕЧАНИЕ При условии, что калибровочная кривая представляет собой прямую, достаточно одноточечной калибровки.

Количество метанола в стандартном растворе и растворе пробы для испытания значительно выше чем в подвижной фазе и это может в некоторых случаях оказать влияние на форму пиков и их разделение. В таких случаях проверяют форму и разделение пиков путем сравнения их с пиками, полученными при вводе основного стандартного раствора (5.7.1), в котором метанол (5.1) был заменен на эквивалентный объем подвижной фазы (5.4).

 © ISO и IDF 2008 – Все права сохраняются