МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ EN 12857-2015

ПРОДУКЦИЯ ПИЩЕВАЯ

Определение цикламата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

(EN 12857:1999, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0-2015 Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены».

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН научно-производственным республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)

2 ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 февраля 2015 г. № 75-П)

За принятие стандарта проголосовали:

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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 мая 2016 г. № 365-ст межгосударственный стандарт ГОСТ EN 12857–2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен европейскому стандарту EN 12857:1999 «Продукция пищевая. Определение цикламата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии» («Foodstuffs. Determination of cyclamate. High performance liquid chromatographic method», IDT).

Европейский стандарт разработан техническим комитетом CEN/TC 275 «Анализ пищевых продуктов. Горизонтальные методы», Европейского комитета по стандартизации (CEN).

Официальный экземпляр европейского стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и европейского стандарта, на которые дана ссылка, имеются в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

Сведения о соответствии ссылочных европейских стандартов ссылочным межгосударственным стандартам 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

© Стандартинформ, 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...
2 Нормативные ссылки...
3 Сущность метода...
4 Реактивы...
5 Вспомогательное оборудование, посуда и материалы...
6 Проведение испытания...
7 Обработка результатов...
8 Прецизионность ...
9 Протокол испытаний...
Приложение А (справочное) Определение содержания хлора в растворах гипохлорита...
Приложение В (справочное) Типовые хроматограммы при определении цикламата.....
Приложение С (справочное) Данные по прецизионности.....
Библиография...
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных европейских стандартов ссылочным межгосударственным стандартам.....

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ПРОДУКЦИЯ ПИЩЕВАЯ

Определение цикламата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Foodstuffs.
Determination of cyclamate. High performance liquid chromatographic method

Дата введения — 2017–07–01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевую продукцию и устанавливает метод определения цикламата с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходим следующий ссылочный стандарт. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного стандарта (включая все его изменения).

EN ISO 3696:1995 Water for analytical laboratory use. Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний)

3 Сущность метода

Метод основан на экстрагировании цикламата натрия из пробы водой, последующей химической конверсии цикламата в N,N-дихлорциклогексиламин и количественном определении N,N-дихлорциклогексиламина с помощью ВЭЖХ с применением хроматографической колонки с обращенно-фазовым сорбентом и спектрофотометрического детектирования при длине волны 314 нм.

4 Реактивы

Для проведения анализа, если не указано иное, используют только реактивы признанной аналитической чистоты и воду не ниже первой степени чистоты по

EN ISO 3696. При приготовлении растворов учитывают массовую долю основного вещества в реактиве.

4.1 Метиловый спирт (метанол) для ВЭЖХ.

4.2 Н-гептан для ВЭЖХ.

4.3 Петролейный эфир с диапазоном температур кипения 40 °С — 60 °С.

4.4 Натрий сернокислый безводный. При необходимости реактив промывают н-гептаном для удаления липофильных примесей.

4.5 Натрий углекислый, раствор массовой концентрацией 50 г/дм³.

4.6 Натрий хлорноватистокислый (гипохлорит натрия), раствор массовой концентрацией активного хлора 1,7 %.

Раствор гипохлорита натрия массовой концентрацией активного хлора более 1,7 % разбавляют водой до получения раствора массовой концентрацией активного хлора 1,7 %. Массовую концентрацию активного хлора в приготовленном растворе регулярно контролируют по методике, приведенной в приложении А.

4.7 Серная кислота, раствор массовой долей 50 %.

4.8 Цикламат натрия, стандартные растворы.

898 мг цикламата натрия, взвешенного с точностью до 0,1 мг, переносят в мерную колбу вместимостью 200 см³, объем содержимого в колбе доводят до метки водой. Массовая концентрация циклогексиламино-N-сульфоновой кислоты в полученном основном стандартном растворе составляет 800 мг/200 см³ (коэффициент пересчета массы цикламата натрия в массу циклогексиламино-N-сульфоновой кислоты равен 0,8909). Для приготовления стандартных растворов в мерные колбы вместимостью 100 см³ вносят 0,25; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 см³ основного стандартного раствора, объем содержимого в колбах доводят до метки водой. Массовая концентрация циклогексиламино-N-сульфоновой кислоты в полученных стандартных растворах составляет соответственно 10, 40, 100, 200, 400, 800 мг/дм³.

4.9 Раствор Карреза № 1

15 г железистосинеродистого калия (II) ($K_4[Fe(CN)_6]\cdot 3H_2O$) массовой долей не менее 99 % растворяют в некотором количестве воды и разбавляют до объема 100 см³.

4.10 Раствор Карреза № 2

30 г сернокислого цинка ($ZnSO4 \cdot 7H_2O$) массовой долей не менее 99,5 % растворяют в некотором количестве воды и разбавляют до объема 100 см^3.

4.11 Подвижная фаза для ВЭЖХ

Смешивают 80 объемных частей метанола (4.1) с 20 объемными частями воды, полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, после чего раствор дегазируют с помощью ультразвуковой бани в течение 5 мин.

Для достижения оптимального качества хроматографического разделения допускается использовать подвижную фазу с другим соотношением метанола и воды.

4.12 Раствор для кондиционирования (промывки) хроматографической колонки – раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты массовой концентрацией 10 г/дм^3

Приготовленный раствор перед использованием фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, после чего раствор дегазируют с помощью ультразвуковой бани в течение 5 мин.

4.13 Порошкообразная целлюлоза массовой долей не менее 99,9 %, промытая кислотой.

5 Вспомогательное оборудование, посуда и материалы

Используют стандартное лабораторное оборудование, в том числе перечисленное ниже.

5.1 Оборудование для ВЭЖХ.

5.1.1 Высокоэффективный жидкостный хроматограф, состоящий из насоса, устройства для инжектирования пробы, спектрофотометрического детектора, пригодного для измерения оптической плотности при длине волны 314 нм (предпочтителен диодно-матричный детектор), самописца или интегратора, позволяющего измерять высоту и площадь хроматографических пиков.

5.1.2 Аналитическая хроматографическая колонка, заполненная обращенно-фазовым сорбентом с неподвижной фазой RP C 18 размером частиц 5 мкм, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4 мм, снабженная защитной колонкой с обращенно-

фазовым сорбентом RP C 18 размером частиц 5 мкм (применение защитной колонки рекомендуется при испытании любых проб твердой консистенции).

Критерием пригодности хроматографической колонки для данного вида анализа является разделение пиков анализируемого вещества и соседних пиков компонентов матрицы пробы на уровне базовой линии.

В случае наложения хроматографического пика исследуемого вещества на пик какого-либо сопутствующего вещества матрицы пробы, обнаруживаемого при регистрации хроматограммы с использованием диодно-матричного детектора или спектрофотометрического детектора, позволяющего измерять аналитический сигнал одновременно при двух длинах волн, подбирают другую хроматографическую колонку, обеспечивающую необходимое качество хроматографического разделения.

5.2 Баня ультразвуковая.

5.3 Фильтры мембранные с размером пор не более 0,45 мкм.

5.4 Устройство для фильтрования, снабженное держателем мембранных фильтров и пригодное для фильтрации и дегазирования подвижной фазы (4.11) и раствора для кондиционирования (промывки) колонки (4.12).

5.5 Гомогенизатор.

5.6 Баня водяная, пригодная для поддержания температуры 60 °С.

5.7 Лабораторная центрифуга, обеспечивающая центробежное ускорение в основании центрифужных пробирок (5.8) не менее 1400g.

5.8 Стеклянные центрифужные пробирки вместимостью 50 см^3, снабженные пробками.

5.9 Делительные воронки вместимостью 50, 100 см^3.

5.10 Фильтровальная бумага, обеспечивающая среднюю скорость фильтрации.

5.11 Фильтры для разделения фаз (на усмотрение пользователей настоящего стандарта).

6 Проведение испытания

6.1 Приготовление раствора пробы для анализа

6.1.1 Жидкая продукция и продукция, являющаяся прозрачным раствором (например, осветленные фруктовые соки, фильтрованный огуречный рассол)

Пробу фильтруют, после чего разбавляют водой таким образом, чтобы ожидаемая массовая концентрация цикламата в растворе составляла около 400 мг/дм³, или используют пробу без разбавления. При анализе твердой продукции, дающей прозрачные водные растворы (например, леденцов), пробу растворяют в воде таким образом, чтобы ожидаемая массовая концентрация цикламата в растворе составляла около 400 мг/дм³.

6.1.2 Пастообразная, вязкая или вязкопластичная продукция (например, молочные продукты, десерты, взбитые сливки, соков с мякотью, джемы, мармелады)

Пробу тщательно гомогенизируют в течение не менее 1 мин. Около 15 г гомогенизированной пробы, взвешенной с точностью до 1 мг, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³. Допускается использовать навеску другой массы, при этом массовая концентрация цикламата в получаемом растворе пробы объемом 100 см³ не должна превышать 400 мг/дм³. В колбу добавляют около 80 см³ воды и помещают на 10 мин в ультразвуковую баню (5.2). Далее добавляют 1–2 см³ раствора Карреза № 1 (4.9), содержимое колбы перемешивают, после чего добавляют такой же объем раствора Карреза № 2 (4.10). Содержимое колбы перемешивают, после чего его объем доводят до метки водой. Полученный раствор фильтруют через складчатый фильтр, отбрасывая первые 10 см³ фильтрата.

Если масса нерастворимого обезжиренного вещества во взятой на анализ навеске пробы превышает 3 г, необходимо исключить влияние объема образующегося осадка на фактический объем получаемого раствора пробы. Для этого смесь, полученную после добавления к пробе раствора Карреза № 1 и раствора Карреза № 2, центрифугируют при центробежном ускорении не менее 1400g. Центрифугат количественно фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 см³. Осадок в пробирке дважды промывают водой, каждый раз центрифугируя полученную смесь. Центрифугаты объединяют в мерной колбе вместимостью 100 см³, объем содержимого в колбе доводят до метки водой. Данную процедуру допустимо проводить также в

случаях, когда масса нерастворимого вещества в навеске пробы составляет менее 3 г.

Для проведения последующей дериватизации цикламата (см. 6.2) используют порцию полученного раствора объемом 20 см³.

6.1.3 Шоколад и шоколадные продукты

Помещают около 15 г пробы, взятой с точностью до 1 мг, в центрифужную пробирку (5.8). Пробирку с навеской выдерживают на водяной бане при температуре 60 °С до полного расплавления материала пробы. Далее в пробирку аккуратно и постепенно добавляют 25 см³ петролейного эфира (4.3), содержимое пробирки тщательно перемешивают, пробирку укупоривают и помещают в ультразвуковую баню на 30 с, после чего снова тщательно перемешивают. Пробирку с содержимым центрифугируют в течение 10 мин при центробежном ускорении 1400g.

Далее слой петролейного эфира декантируют и отбрасывают, после чего проводят повторную экстракцию новой порцией петролейного эфира объемом 25 см³ по той же процедуре, снова декантируя и отбрасывая растворитель. Остаток петролейного эфира в пробирке удаляют упариванием на водяной бане при температуре 60 °С в течение 15 мин при постоянном перемешивании содержимого пробирки.

Далее в пробирку добавляют 30 см³ воды, содержимое тщательно перемешивают. Пробирку с содержимым выдерживают в течение 5 мин в ультразвуковой бане, добавляют около 40 см³ воды, после чего полученную смесь переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. В колбу добавляют 1 см³ раствора Карреза № 1 (4.9), содержимое колбы перемешивают, после чего добавляют 1 см³ раствора Карреза № 2 (4.10). Содержимое колбы тщательно перемешивают. После охлаждения до температуры 20 °С объем содержимого в колбе доводят до метки водой. Полученный раствор фильтруют через складчатый фильтр, отбрасывая первые 10 см³ фильтрата.

Если масса нерастворимого обезжиренного вещества во взятой на анализ навеске пробы превышает 3 г, необходимо исключить влияние объема образующегося осадка на фактический объем получаемого раствора пробы. Для этого смесь, полученную после добавления к пробе растворов Карреза, центрифугируют в течение 10 мин при центробежном ускорении не менее 1400g. Центрифугат количе-

ственно фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 см³. Осадок в пробирке дважды промывают водой, каждый раз центрифугируя полученную смесь. Центрифугаты объединяют в мерной колбе вместимостью 100 см³, объем содержимого в колбе доводят до метки водой. Данную процедуру допустимо проводить также в случаях, когда масса нерастворимого вещества в навеске пробы составляет менее 3 г.

Для проведения последующей дериватизации цикламата (см. 6.2) используют порцию полученного раствора пробы объемом 20 см³.

6.1.4 Жировые эмульсии и продукты, их содержащие (например, майонез)

Помещают 15 г гомогенизированной пробы, взятой с точностью до 1 мг, в центрифужную пробирку (5.8), добавляют 2,5 г порошкообразной целлюлозы (4.13), содержимое пробирки тщательно перемешивают. Добавляют 25 см³ петролейного эфира (4.3), содержимое пробирки перемешивают, пробирку укупоривают и центрифугируют при центробежном ускорении не менее 1400g.

Петролейный эфир декантируют и отбрасывают, после чего проводят повторную экстракцию новой порцией петролейного эфира объемом 25 см³ по той же процедуре, снова декантируя и отбрасывая растворитель. Остаток петролейного эфира в пробирке удаляют упариванием на водяной бане при температуре 60 °С в течение 15 мин при постоянном перемешивании содержимого пробирки.

Далее в пробирку добавляют 40 см³ воды, содержимое тщательно перемешивают. Полученную смесь выдерживают в течение 10 мин в ультразвуковой бане, после чего переносят количественно, используя около 30 см³ воды, в мерную колбу вместимостью 100 см³. В колбу добавляют 1 см³ раствора Карреза № 1 (4.9), перемешивают, после чего добавляют 1 см³ раствора Карреза № 2 (4.10). Содержимое колбы тщательно перемешивают. После охлаждения до температуры 20 °С объем содержимого в колбе доводят до метки водой. Полученный раствор фильтруют через складчатый фильтр, отбрасывая первые 10 см³ фильтрата.

Если масса нерастворимого обезжиренного вещества во взятой на анализ навеске пробы превышает 3 г, необходимо исключить влияние объема образующегося осадка на фактический объем получаемого раствора пробы. Для этого смесь, полученную после добавления к пробе растворов Карреза, центрифугируют в течение 10 мин при центробежном ускорении не менее 1400g. Центрифугат количе-

ственно фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 см³. Осадок в пробирке дважды промывают водой, каждый раз центрифугируя полученную смесь. Центрифугаты объединяют в мерной колбе вместимостью 100 см³, объем содержимого в колбе доводят до метки водой. Данную процедуру допустимо проводить также в случаях, когда масса нерастворимого вещества в навеске пробы составляет менее 3 г.

Для проведения последующей дериватизации цикламата (см. 6.2) используют порцию полученного раствора пробы объемом 20 см³.

6.2 Дериватизация цикламата

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ – В целях обеспечения безопасности процедуру дериватизации необходимо проводить в вытяжном шкафу в связи с выделением хлора.

Для подготовки раствора пробы или стандартного раствора к хроматографическому анализу в делительную воронку (5.9) пипеткой отбирают 20 см³ раствора пробы, полученного по 6.1.1–6.1.4, или стандартного раствора (4.8). В воронку добавляют 1,0 см³ раствора серной кислоты (4.7), 10,0 см³ н-гептана (4.2) и 2,5 см³ раствора гипохлорита натрия (4.6). Воронку интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после чего оставляют в покое для расслоения водной и органической фаз. Нижнюю водную фазу отбрасывают. В случае неполного разделения фаз и образования в результате экстракции стойкой нерасслаивающейся эмульсии ее не отбрасывают и в дальнейшем подвергают тем же операциям, что и гептановый экстракт.

Гептановый экстракт промывают в делительной воронке, добавляя к нему порцию раствора углекислого натрия (4.5) объемом 25 см³ и интенсивно встряхивая воронку в течение 30 с. После расслоения фаз нижнюю водную фазу отбрасывают. Если водная и органическая фазы расслоились с образованием четкой границы их раздела, гептановый экстракт, полученный после удаления водной фазы, обезвоживают путем добавления порции сернокислого натрия (4.4) массой около 1 г, после чего экстракт фильтруют через складчатый фильтр, фильтрат используют для хроматографического анализа. В случае образования в результате экстракции стойкой эмульсии, для обезвоживания гептанового экстракта используют порцию сернокислого натрия массой около 7 г и фильтруют через складчатый фильтр или с помощью фильтра для разделения фаз (5.11).

Срок годности полученных в результате дериватизации цикламата растворов для хроматографического анализа — 24 ч при температуре 4 °С.

6.3 Идентификация

Пик анализируемого вещества на хроматограмме раствора пробы идентифицируют посредством сравнения его времени удерживания со временем удерживания пика этого вещества на хроматограмме стандартного раствора. Идентификацию пика анализируемого вещества можно также проводить путем сравнения хроматограмм раствора пробы с добавлением и без добавления стандартного раствора исследуемого вещества либо путем сопоставления спектров поглощения пиков исследуемого вещества на этих хроматограммах в характерном для данного вещества диапазоне длин волн.

Проводят хроматографический анализ раствора пробы и стандартных растворов, соблюдая одинаковые объемы инжекции. Интервал между последовательными инжекциями стандартных растворов должен составлять не менее 15 мин. При анализе серии проб следует принять меры по исключению вероятности ошибочного принятия за пик аналита пика вещества, элюирующегося с предыдущей инжекции. Это обеспечивается соблюдением достаточно большого интервала (около 30 мин) между последовательными инжекциями растворов проб.

При использовании колонки, указанной в 5.1.2, приемлемое качество хроматографического анализа достигается применением следующих параметров анализа: состав подвижной фазы — в соответствии с 4.11; скорость потока подвижной фазы — 1,0 $см^3$/мин; объем инжекции — 20 $мм^3$; длина волны детектирования — 314 нм.

Хроматографическую колонку ежедневно перед началом анализов следует кондиционировать (промывать). Для этого колонку промывают в течение 10 мин водой, затем в течение 30 мин раствором для кондиционирования (промывки) хроматографической колонки (4.12), после чего снова в течение 10 мин водой.

В приложении В приведены типовые хроматограммы при определении цикламата.

6.4 Количественное определение

Количественное определение проводят по методу внешнего стандарта либо с использованием градуировочного графика.

При применении метода внешнего стандарта массовую концентрацию анализируемого вещества в растворе пробы рассчитывают исходя из площади или высоты пика этого вещества на хроматограмме раствора пробы и соотношения между массовой концентрацией исследуемого вещества в стандартном растворе и площадью или высотой его пика на хроматограмме этого раствора. Массовую концентрацию цикламата в стандартном растворе подбирают исходя из обеспечения максимальной приближенности площади или высоты пика цикламата на хроматограмме стандартного раствора соответствующим значениям, полученным при анализе раствора пробы.

Для получения градуировочного графика проводят хроматографический анализ достаточного числа стандартных растворов, диапазон массовых концентраций цикламата в которых соответствует ожидаемой массовой концентрации цикламата в растворе пробы. По результатам этих анализов строят график зависимости высоты или площади пика исследуемого вещества от массовой концентрации цикламата. Проверяют соблюдение условия нахождения области построения градуировочного графика в области линейной зависимости аналитического сигнала от массовой концентрации исследуемого вещества.

В качестве альтернативы градуировочному графику допускается использовать градуировочную характеристику, имеющую вид функциональной зависимости, которую находят с помощью регрессионного анализа. В этом случае также проверяют соблюдение условия нахождения области определения градуировочной характеристики в области линейной зависимости аналитического сигнала от массовой концентрации исследуемого вещества.

7 Обработка результатов

7.1 Метод внешнего стандарта

Содержание циклогексиламино-N-сульфоновой кислоты w, мг/кг, или массовую концентрацию циклогексиламино-N-сульфоновой кислоты ρ, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$w \text{ или } \rho = \frac{A_1 \cdot V_1 \cdot m_1 \cdot F}{A_2 \cdot V_2 \cdot m_0} \cdot 1000 \qquad (1)$$

где A_1 – площадь пика производного цикламата, полученная при анализе раствора пробы;

V_1 – объем приготовленного раствора пробы, см³ (в данном случае V = 100 см³)

m_1 – масса циклогексиламино-N-сульфоновой кислоты в градуировочном растворе объемом V_2, мг;

F – фактор разбавления, учитывающий все разбавления, не описанные в настоящем стандарте и примененные дополнительно;

A_2 – площадь пика производного цикламата, полученная при анализе стандартного раствора;

V_2 – объем приготовленного стандартного раствора, см³ (в данном случае V = 100 см³);

m_0 – масса навески пробы, г, или объем порции пробы, взятый для проведения анализа, см³;

7.2 Градуировочный график

Содержание циклогексиламино-N-сульфоновой кислоты w, мг/кг, или массовую концентрацию циклогексиламино-N-сульфоновой кислоты ρ, мг/дм³, вычисляют по формуле

$$w \text{ или } \rho = \frac{\rho_{cs} \cdot V_1 \cdot F}{m_0} \cdot 1000, \qquad (2)$$

где ρ_{cs} – массовая концентрация циклогексиламино-N-сульфоновой кислоты в анализируемом растворе, определенная по градуировочному графику, мг/дм³

V_1, m_0, F – см. формулу (1).

7.3 Представление результатов

Результаты анализа выражают целым числом без десятичных знаков.

Примечание – Коэффициент пересчета цикламата натрия в циклогексиламино-N-сульфоновую кислоту равен 0,8909.

8 Прецизионность

8.1 Общие положения

Подробности межлабораторных испытаний по определению прецизионности методики, проведенных в соответствии с [4], приведены в приложении С. Значения

характеристик прецизионности, полученные в результате межлабораторных испытаний, могут быть неприменимы к содержаниям исследуемого вещества и типам матриц, отличных от указанных в приложении С.

8.2 Повторяемость

Абсолютное расхождение между двумя отдельными результатами испытаний, которые были получены при применении одного и того же метода на идентичном испытательном материале одним и тем же оператором на одном и том же оборудовании в течение короткого промежутка времени, не должно превышать предел повторяемости r более чем в 5 % случаев.

Значения предела повторяемости:

напиток на основе лимонного сока	$\bar{x}$ = 435,9 мг/дм^3	r = 16,7 мг/дм^3
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 178,3 мг/дм^3	r = 15,4 мг/дм^3
взбитые сливки	$\bar{x}$ = 280,9 мг/кг	r = 26,0 мг/кг
фруктовый йогурт	$\bar{x}$ = 647,6 мг/кг	r = 42,4 мг/кг

8.3 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух единичных испытаний, полученными на идентичном объекте испытаний, двумя лабораториями не должно превышать предел воспроизводимости R более чем в 5 % случаев.

Значения предела воспроизводимости:

напиток на основе лимонного сока	$\bar{x}$ = 435,9 мг/дм^3	R = 38,1 мг/дм^3
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 178,3 мг/дм^3	R = 24,4 мг/дм^3
взбитые сливки	$\bar{x}$ = 280,9 мг/кг	R = 49,7 мг/кг
фруктовый йогурт	$\bar{x}$ = 647,6 мг/кг	R = 168,4 мг/кг

9 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать следующие сведения:

- всю информацию, необходимую для идентификации пробы;
- ссылку на настоящий стандарт или примененный метод;
- дату и время отбора пробы (если они известны);
- дату поступления пробы в лабораторию;
- дату проведения испытания;
- результаты испытания с указанием единиц измерений;

- все особенности, наблюдавшиеся при проведении испытания;

- все операции, не оговоренные в методике или рассматриваемые как необязательные, которые могли повлиять на результат испытания.

Приложение А
(справочное)

Определение содержания хлора в растворах гипохлорита

А.1 Реактивы

А.1.1 Калий йодистый, раствор массовой концентрацией 50 г/дм^3.

А.1.2 Соляная кислота, раствор массовой долей 10 %.

А.1.3 Натрия тиосульфат, раствор молярной концентрацией $c(Na_2S_2O_3)$ = 0,1 моль/дм^3.

А.1.4 Растворимый крахмал, раствор массовой долей 1 %.

А.1.5 Кальция карбонат порошкообразный.

А.2 Процедура проведения испытания

Порцию раствора гипохлорита натрия ожидаемой массовой концентрацией активного хлора около 2 % объемом 1,0 см^3 помещают в коническую колбу, куда добавляют около 100 см^3 воды и 10 см^3 раствора йодистого калия (А.1.1), содержимое колбы перемешивают. В колбу вносят 5 см^3 раствора соляной кислоты (А.1.2) и карбонат кальция в количестве, умещающемся на конце шпателя, содержимое колбы аккуратно перемешивают. Полученную смесь титруют раствором тиосульфата натрия (А.1.3) при постоянном перемешивании до практически полного исчезновения коричневого цвета раствора. Далее добавляют 0,5 см^3 раствора крахмала в качестве индикатора и продолжают титрование при постоянном перемешивании до полного исчезновения синего цвета раствора.

А.3 Обработка результатов

Массовую концентрацию активного хлора в растворе ρ_{ac}, г/100 см^3, вычисляют по формуле

$$\rho_{ac} = \frac{V_T \cdot 3{,}546 \cdot F_T \cdot F_V \cdot 100}{V_H \cdot 1000},$$

где V_T – объем раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование, см^3;

F_T – поправочный коэффициент к концентрации раствора тиосульфата натрия;

F_V – фактор разведения;

V_H – объем раствора гипохлорита натрия, использованный для анализа (равен 1 см^3), см^3.

Примечание – Порция раствора тиосульфата натрия концентрацией 0,1 моль/дм^3 объемом 1 см^3 расходуется на титрование 3,546 мг активного хлора (Cl), 2,623 мг хлорноватистой кислоты (HClO), 3,7221 мг гипохлорита натрия (NaClO), 0,7999 мг активного кислорода (O).

Приложение В
(справочное)

Типовые хроматограммы при определении цикламата



Рисунок В.1 — Хроматограмма раствора пробы (напиток на основе вишневого сока) методом ВЭЖХ

Условия хроматографического анализа:

Марка сорбента колонки:	Nucleosil C18, 5 мкм.
Диаметр колонки:	4 мм.
Длина колонки:	250 мм.
Защитная колонка:	Nucleosil C18, 5 мкм.
Подвижная фаза:	метанол + вода (80 + 20 частей по объему).
Скорость потока:	1,0 $см^3$/мин.
Объем инжекции:	20 $мм^3$.

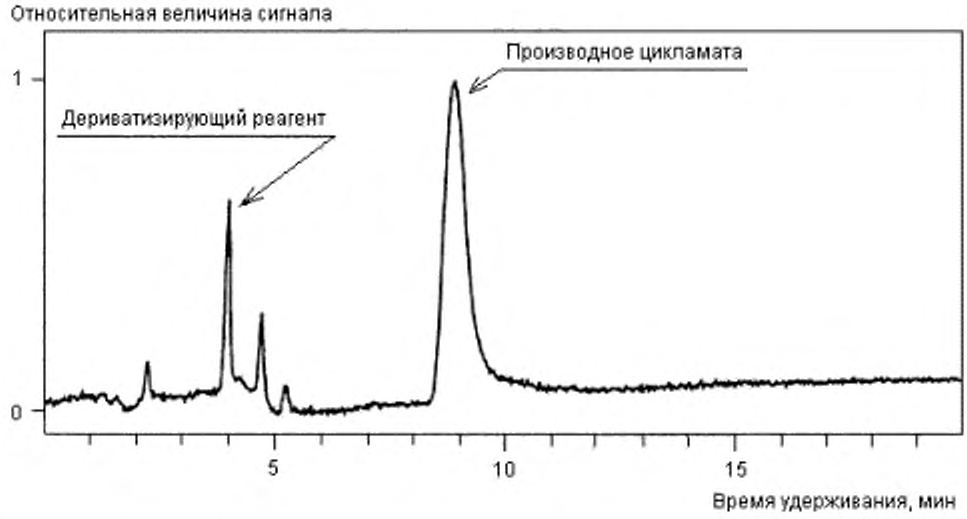


Рисунок В.2 — Хроматограмма раствора пробы (земляничного йогурта) методом ВЭЖХ

Условия хроматографического анализа:

Марка сорбента колонки:	Lichrospher 60 RP-select B, 5 мкм.
Диаметр колонки:	4 мм.
Длина колонки:	250 мм.
Защитная колонка:	Lichrospher 60 RP-select B, 5 мкм.
Подвижная фаза:	метанол + вода (80 + 20 частей по объему).
Скорость потока:	1,0 $см^3$/мин.
Объем инжекции:	20 $мм^3$.

Приложение С
(справочное)

Данные по прецизионности

Приведенные в таблице С.1 данные получены в результате межлабораторных испытаний, проведенных в соответствии с [1]–[4]. Объектами испытаний были сокосодержащие напитки на основе лимонного и апельсинового соков, взбитые сливки и фруктовый йогурт.

Таблица С.1

Проба	Напиток на основе лимонного сока	Напиток на основе апельсинового сока	Взбитые сливки	Фруктовый йогурт
Год проведения испытаний	1992	1994	1994	1994
Число лабораторий-участников	4	10	10	10
Число проб	1	1	1	1
Число лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	4	9	9	9
Число выбросов (лабораторий)	0	1	1	1
Число принятых результатов	8	48	48	48
Среднее значение $\bar{x}$	435,9 мг/дм^3	178,3 мг/дм^3	280,9 мг/кг	647,6 мг/кг
Стандартное отклонение повторяемости s_r	6,0 мг/дм^3	5,5 мг/дм^3	9,2 мг/кг	15,2 мг/кг
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSDr, %	1,4	3,1	3,3	2,3
Предел повторяемости r	16,7 мг/дм^3	15,4 мг/дм^3	26,0 мг/кг	42,4 мг/кг
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	13,6 мг/дм^3	8,6 мг/дм^3	17,6 мг/кг	59,5 мг/кг
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, %	3,1	4,9	6,3	9,3
Предел воспроизводимости R	38,1 мг/дм^3	24,4 мг/дм^3	49,7 мг/кг	168,4 мг/кг
Значение индекса Горвица	0,5	0,7	0,9	1,5

Библиография

[1] Untersuchung von lebensmitteln: Bestimmung von Natriumcyclamat L 00.00-29, 1996-02 in Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG: Verfahren zur Probenahme und Untersuchung von lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und Badarfsgegenst änden /Bundesgesundheimsamt. Loseblattausgabe, Stand Februar 1996 Bd 1. Berlin, Köln: Beuth Verlag GmbH (Анализ пищевых продуктов. Определение содержания цикламата в пищевых продуктах)

[2] Lehr M., Schmid W.: Einfaches und spezifisches HPLC-Verfahren zur Bestimmung von Cyclamat in fruchtsafthaltigen Geträken nach Derivatisierung zu N,N-Dichlorcyclohexylamin. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 1991, 192, 335–338 (Простая и специфичная методика ВЭЖХ для определения содержания цикламата в напитках на основе фруктовых соков с применением его преобразования в N,N-дихлороциклогексиламин)

[3] Lehr M., Schmid W.: Anwendung der Festphasenextraktion bei der Bestimmung von Süßtoffen in Lebensmitteln mittels HPLC. Dtsch. Lebensm. Rdsch., 1993, 89, 2, 43–45 (Применение твердофазной экстракции для определения подсластителей в пищевых продуктах методом ВЭЖХ)

[4] ISO 5725:1986 Precision of test methods — Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests (Точность (правильность и прецизионность) методов испытаний. Определение повторяемости и воспроизводимости результатов стандартного метода с помощью межлабораторных испытаний)

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных европейских стандартов ссылочным межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного европейского стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
EN ISO 3696:1995	–	*

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык европейского стандарта EN ISO 3696. Официальный перевод данного европейского стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов Российской Федерации.

УДК 641.1:663.051:543.544.5.068.7:006.35 МКС 67.050 IDT

Ключевые слова: пищевая продукция, определение, цикламат, высокоэффективная жидкостная хроматография

gost.e-ecolog.ru