МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 7358— 2015

МАСЛА ЭФИРНЫЕ БЕРГАМОТОВОЕ, ЛИМОННОЕ, ГОРЬКОГО ПОМЕРАНЦА И ЛАЙМА, ПОЛНОСТЬЮ ИЛИ ЧАСТИЧНО ОЧИЩЕННЫЕ ОТ БЕРГАПТЕНА

Определение содержания бергаптена методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

(ISO 7358:2002, Oils of bergamot, lemon, citron and lime, fully or partially reduced in bergapten — Determination of bergapten content by high-pressure liquid chromatography (HPLC), IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Автономной некоммерческой организацией «ПАРФЮМТЕСТ» (АНО «ПАРФЮМТЕСТ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 октября 2015 г. № 81-П)

За принятие 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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 ноября 2015 г. № 1800-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 7358—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 7358:2002 «Масла бергамотовое, лимонное, горького померанца и лайма, полностью или частично очищенные от бергаптена. Определение содержания бергаптена методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)» [«Oils of bergamot, lemon, citron and lime, fully or partially reduced in bergapten — Determination of bergapten content by high-pressure liquid chromatography (HPLC)», IDT].

Международный стандарт разработан техническим комитетом по стандартизации ISO/TC 54 «Эфирные масла» Международной организации по стандартизации (ISO).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 Некоторые элементы настоящего стандарта могут являться объектом патентных прав

8 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2019 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 2002 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2016, 2019

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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МАСЛА ЭФИРНЫЕ БЕРГАМОТОВОЕ, ЛИМОННОЕ, ГОРЬКОГО ПОМЕРАНЦА И ЛАЙМА, ПОЛНОСТЬЮ ИЛИ ЧАСТИЧНО ОЧИЩЕННЫЕ ОТ БЕРГАПТЕНА

Определение содержания бергаптена методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

Essential oils of bergamot, lemon, citron and lime, fully and partially reduced in bergapten. Determination of bergapten content by high-pressure liquid chromatography (HPLC)

Дата введения — 2017—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее — ВЭЖХ) с использованием метода «внутреннего стандарта» и метода «внешнего стандарта» для определения содержания бергаптена в бергамотовом эфирном масле [*Citrus aurantium* ssp. *bergamia* (Risso et Poit.) Wight et Arn. ex Engl.], лимонном эфирном масле [*Citrus limon* (L.) Burm. f.], эфирном масле горького померанца (*Citrus bigaradia* Risso) и эфирном масле лайма [*Citrus aurantifolia* (Chrisym.) Swingle and *Citrus latifolia* Tanaka], которые полностью или частично очищены от бергаптена.

Метод «внутреннего стандарта» применяют для эфирных масел с массовой долей бергаптена ≥ 0,001 %.

Метод «внешнего стандарта» применяют для эфирных масел с массовой долей бергаптена от 0,0001 % до 0,001 %.

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные стандарты. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения).

ISO 356, Essential oils — Preparation of test samples (Масла эфирные. Подготовка образцов для испытаний)

ISO 8432:1987, Essential oils — Analysis by high performance liquid chromatography — General method (Масла эфирные. Анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Общий метод)

3 Сущность метода

Жидкостная хроматография основана на физико-химических процессах адсорбции, разделения, ионного обмена или эксклюзии. Метод дает возможность анализировать небольшое количество эфирного масла с использованием хроматографической колонки с подходящей насадкой, в подходящих условиях, с определением различных компонентов и количественным определением специфических соединений.

4 Реактивы

Необходимо использовать только реактивы аналитической степени чистоты.

Примечание — Особое внимание необходимо обратить на опасность, связанную с использованием хлороформа, как токсичного растворителя.

Издание официальное

4.1 Контрольное вещество: бергаптен, известной чистоты большей или равной 95 %.

4.2 Внутренний стандарт: кумарин, известной чистоты большей или равной 98 %.

4.3 Растворители

4.3.1 Хлороформ, ч. д. а., содержащий менее 2 % (по объему) этанола, для использования в подготовке пробы эфирного масла, содержащего бергаптен, и подготовке как внутреннего стандарта, так и подвижной фазы.

4.3.2 Гексан, чистый для хроматографии, для использования в подвижной фазе (см. 4.3.4).

4.3.3 Этилацетат, чистый для хроматографии, для использования в подвижной фазе (см. 4.3.4).

4.3.4 Подвижная фаза

Для подвижной фазы используют растворители качества, совместимого с системой обнаружения, и готовят их в количестве, достаточным для полного анализа. Смешивают, например, одни из следующих:

4.3.4.1 Гексан (см. 4.3.2) и этилацетат (см. 4.3.3) в отношении 80:20 по объему.

4.3.4.2 Гексан (см. 4.3.2) и хлороформ (см. 4.3.1) в отношении 85:15 по объему.

5 Оборудование

5.1 Система для ВЭЖХ, состоящая следующего оборудования.

5.1.1 Жидкостный хроматограф.

5.1.2 Колонка, из нержавеющей стали, длиной от 150 до 250 мм, внутренним диаметром от 4 до 5 мм и заполненная неподвижной фазой, состоящей из гранулированного диоксида кремния, чистого для хроматографии, с размером гранул около 5 мкм.

5.1.2* Система подачи растворителя, способная подавать подвижную фазу при постоянной или программируемой скорости потока.

5.1.3 Система дегазации растворителя (не обязательно).

5.1.4 УФ детектор со спектральным диапазоном длин волн от 254 до 313 нм.

5.1.5 Записывающее устройство и (не обязательно) интегратор, подходящие для данной системы ВЭЖХ.

5.2 Мерные колбы, вместимостью от 15 до 150 $см^3$, в зависимости от предполагаемого содержания бергаптена в пробе.

6 Подготовка пробы для испытания

Подготовка пробы для испытания в соответствии с ISO 356.

При наличии небольшого осадка пробу слегка подогревают.

7 Проведение испытания

7.1 Условия проведения ВЭЖХ

Настраивают скорость потока подвижной фазы (см. 4.3.4) так, чтобы получить хорошее разделение пиков, соответствующих бергаптену и кумарину, от других компонентов эфирного масла, обнаруживаемых УФ детектором. (см. 5.1.4). Скорость потока обычно составляет от 0,5 до 1 $см^3$/мин.

Следуют процедуре, указанной в ISO 8432.

7.2 Определение

7.2.1 Метод внутреннего стандарта для эфирных масел с массовой долей бергаптена от 0,001 %

7.2.1.1 Оптимизация условий проведения анализа ВЭЖХ

7.2.1.1.1 Разделение

Удостоверяются, что пик бергаптена полностью отделен от пиков других компонентов эфирного масла на полученных хроматограммах. Кроме того, проверяют, чтобы пик внутреннего стандарта, кумарина (см. 4.2), не маскировал и (или) частично не перекрывал пики других компонентов эфирного масла. Определяют время удерживания бергаптена и кумарина.

7.2.1.1.2 Количество внутреннего стандарта

Количество кумарина (внутреннего стандарта), добавленного в пробу, считают подходящим, когда площади пиков бергаптена (в масле) и кумарина приблизительно равны на хроматограммах. Для определе-

* Так в оригинале ISO 7358:2002.

ния этого количества вводят в колонку ВЭЖХ (например, 10 мм^3) раствор, содержащий данное количество (например, 10 мг) кумарина (см. 4.2), растворенного в хлороформе (см. 4.3.1, например, 10 см^3). Затем вводят такой же объем раствора анализируемого эфирного масла, разведенного в хлороформе (см. 4.3.1). Регулируют массовые концентрации обоих растворов так, чтобы получить сопоставимые площади пиков.

7.2.1.2 Коэффициент чувствительности детектора K

Готовят градуировочный раствор. В мерной колбе (см. 5.2) подходящего объема взвешивают 20 мг кумарина (см. 4.2) с точностью до 0,1 мг. В такой же мерной колбе взвешивают 10 мг бергаптена (см. 4.1) приблизительно с точностью до 0,1 мг и растворяют оба компонента примерно в 20 см^3 хлороформа (см. 4.3.1).

Вводят подходящее количество (см. 7.2.1.1) градуировочный раствора так, чтобы остаться внутри диапазона чувствительности детектора.

Измеряют площади пиков на хроматограмме. Типичная хроматограмма стандартных веществ представлена в приложении А.

Вычисляют коэффициент чувствительности детектора K по формуле (1):

$$K = \frac{m_R \cdot A_{IS}}{m_{IS} \cdot A_R}, \quad (1)$$

где m_R — масса бергаптена (контрольное вещество) (см. 4.1), добавленная к раствору, мг;

m_{IS} — масса кумарина (внутренний стандарт) (см. 4.2), добавленная к раствору, мг;

A_R — площадь пика, соответствующая бергаптену (стандартное вещество) (см. 4.1), в единицах измерения интегратора;

A_{IS} — площадь пика, соответствующая кумарину (внутренний стандарт) (см. 4.2) , в единицах измерения интегратора.

Примечание — В ISO 8432 данная формула эквивалентна следующей:

$$K = \frac{m_R \cdot A_E}{m_E \cdot A_R},$$

где m_R — масса бергаптена (контрольное вещество) (см. 4.1), добавленная к раствору, мг;

m_E — масса кумарина (внутренний стандарт) (см. 4.2), добавленная к раствору, мг;

A_R — площадь пика, соответствующая бергаптену (стандартное вещество) (см. 4.1), в единицах измерения интегратора;

A_E — площадь пика, соответствующая кумарину (внутренний стандарт) (см. 4.2), в единицах измерения интегратора.

7.2.1.3 Определение бергаптена

Готовят испытуемый раствор в мерной колбе (см. 5.2) подходящего объема (например, 15 см^3). Взвешивают с точностью до 0,1 мг подходящее количество кумарина (m_{IS}) (приблизительно 10 мг), как определено в 7.2.1.2, и порцию пробы эфирного масла для испытания (m_S) так, чтобы получилась хроматограмма с сопоставимыми площадями пиков для бергаптена и кумарина.

Добавляют хлороформ (см. 4.3.1, приблизительно 8 см^3) и аккуратно встряхивают, чтобы растворить кумарин.

Необходимо приготовить столько разведений испытуемого раствора, сколько необходимо для получения хроматограммы с сопоставимыми площадями пиков бергаптена и кумарина, поскольку содержание бергаптена в эфирных маслах неизвестно (полностью или частично очищены от бергаптена). Выбирают мерную колбу такой вместимости, чтобы поместились необходимое количество кумарина и хлороформа.

Используя те же условия проведения анализа ВЭЖХ, установленные в 7.2.1.1, вводят подходящее количество испытуемого раствора так, чтобы остаться внутри диапазона чувствительности детектора.

Измеряют площади пиков хроматограммы.

Измеряют и записывают площади пиков хроматограммы, соответствующих бергаптену (A_X) и кумарину (A_{IS}).

Типичная хроматограмма представлена в приложении А.

7.2.2 Метод внешнего стандарта для эфирных масел с массовой долей бергаптена от 0,0001 % до 0,001 %

Следуют процедуре для метода «внешнего стандарта», установленной в ISO 8432.

8 Вычисления

8.1 Метод «внутреннего стандарта» для эфирных масел с массовой долей бергаптена большим или равным 0,001 %

Используя коэффициент чувствительности детектора K, определяемого в 7.2.1.2, вычисляют массовую долю бергаптена w_x, %, в эфирном масле по формуле (2):

$$w_x = K\left(\frac{m_{IS} \cdot A_x}{m_s \cdot A_{IS}}\right) \cdot 100\ \%, \qquad (2)$$

где K — коэффициент чувствительности, вычисленные по формуле (1) (см. 7.2.1.2);

m_{IS} — масса анализируемой пробы кумарина, добавленного в качестве внутреннего стандарта (см. 7.2.1.3), мг;

m_s — масса анализируемой пробы эфирного масла для испытания (см. 7.2.1.3), мг;

A_x — площадь пика, соответствующая бергаптену в пробе для испытания (см. 7.2.1.3), в единицах измерения интегратора;

A_{IS} — площадь пика, соответствующая кумарину (см. 7.2.1.3), в единицах измерения интегратора.

Примечание — В пункте 10.1 ISO 8432:1987 массовую долю бергаптена c_x, %, в эфирном масле определяют по следующей формуле (2):

$$c_x = \frac{A_x m_E K}{A_E m_x} \cdot 100\ \%,$$

где A_x — площадь пика, соответствующая бергаптену в пробе для испытания, в единицах измерения интегратора (см. 7.2.1.3);

A_E — площадь пика, соответствующая кумарину, в единицах измерения интегратора (см. 7.2.1.3);

m_x — масса эфирного масла в пробе для испытания, мг (см. 7.2.1.3);

m_E — масса кумарина, добавленного в качестве внутреннего стандарта в пробу для испытания, мг (см. 7.2.1.3);

K — коэффициент чувствительности, вычисленный по формуле (1) (см. 7.2.1.2).

8.2 Метод внешнего стандарта для эфирных масел с массовой долей бергаптена от 0,0001 % до 0,001 %

Вычисляют количественное содержание бергаптена, установленное в ISO 8432.

9 Прецизионность

9.1 Повторяемость: эфирные масла с массовой долей бергаптена ≥ 0,001 %

Для K и для выражения результатов (%) принимают среднее значение нескольких испытаний (по меньшей мере, трех), выполненных на одной и той же пробе. Значения (K или %), используемые для вычисления данного среднего значения, должны различаться не более чем на ±5 %.

9.2 Повторяемость: эфирные масла с массовой долей бергаптена от 0,0001 % до 0,001 %

Принимают среднее значение нескольких испытаний (по меньшей мере, трех), выполненных на одной и той же пробе. Значения, используемые для вычисления данного среднего значения, не должны различаться более чем на ±20 %.

10 Протокол испытания

Протокол испытания должен включать следующую информацию:

a) составные части системы ВЭЖХ;

b) ссылку на настоящий стандарт;

c) характеристики колонки (материал, размеры, насадка, неподвижная фаза);

d) характеристики детектора (не обязательно) и условия проведения анализа;

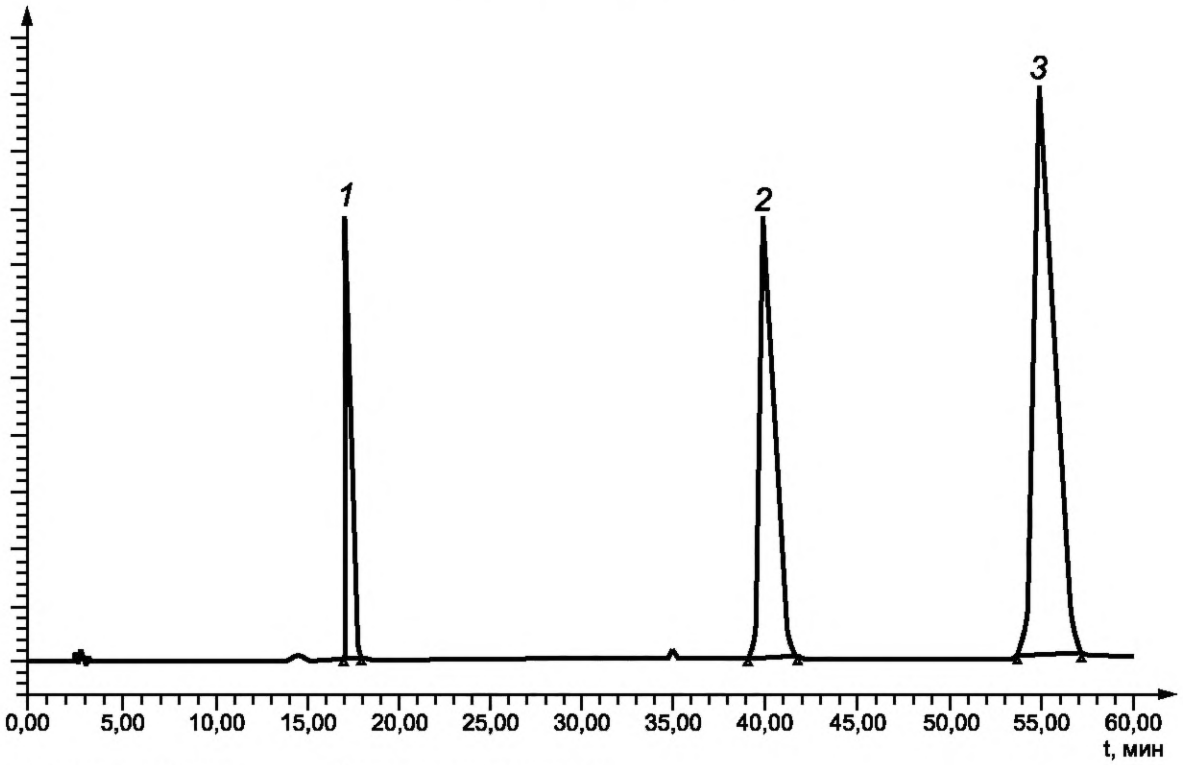
e) характеристики подвижной фазы (скорость потока и ее природа);

f) идентификацию пробы для испытания (введенное количество и конечное разбавление);

g) полученные результаты.

Приложение А
(справочное)

Типичная хроматограмма стандартных веществ, используемых в высокоэффективной жидкостной хроматографии



Обозначение пика
1 Кумарин
2 Цитроптен
3 Бергаптен

Условия эксплуатации
Колонка: Spherisorb 5 ODS® обращенная фаза С 18[1)]
Элюент: А: вода/уксусная кислота (98,2 %/2 %)
В: ацетонитрил
Вводимый объем: 5,0 мм^3
Скорость потока: 1,5 см^3/мин
Градиент:

Время, мин	А, %	В, %
0	80	20
15	80	20
30	70	30
35	80	20
60	80	20
65	20	80
75	20	80
80	80	20
85	80	20

УФ детектор: длина волны 280 нм при *t* от 0 до 20 мин и длина волны 330 нм до конца испытания

Рисунок А.1 — Типичная хроматограмма стандартных веществ

[1)] Spherisorb 5 ODS® — пример подходящей неподвижной фазы, доступный на рынке. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не указывает на предпочтение со стороны ISO в отношении названной продукции. Могут быть использованы аналогичные продукты, если можно показать, что будут получены равноценные результаты.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 356	IDT	ГОСТ ISO 356—2014 «Масла эфирные. Подготовка проб для испытаний»
ISO 8432:1987	—	*

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта.

Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандарта:

- IDT — идентичный стандарт.

УДК 665.58:006.354 МКС 71.100.60

Ключевые слова: эфирные масла, бергамотовое эфирное масло, лимонное эфирное масло, эфирное масло горького померанца, эфирное масло лайма, бергаптен, содержание бергаптена, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Редактор *Е.И. Мосур*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 03.04.2019. Подписано в печать 20.05.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,12.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru